



## **МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ МЕЛИССЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ НИКИТСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА**

**Никитина А.С.<sup>1</sup>, Логвиненко Л.А.<sup>2</sup>, Никитина Н.В.<sup>1</sup>, Нигарян С.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России,  
357532, Россия, Пятигорск, пр. Калинина, 11

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена Трудового Красного Знамени  
Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»,  
298648, Россия, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита

E-mail: lina\_nikitina@mail.ru

*В статье представлены результаты морфолого-анатомического, морфометрического и гистохимического исследования надземной части мелиссы лекарственной (*Melissa officinalis L.*), селекционного сортобразца из коллекции Никитского ботанического сада – Национального научного центра (НБС-ННЦ) РАН, Республика Крым. Получены данные по морфологии, гистохимии и морфометрии основных диагностических микроскопических признаков травы *Melissa officinalis L.*, которые имеют определяющее значение для установления подлинности лекарственного растительного сырья, а также показывают локализацию секреции метаболитов и гетерогенную природу эфирного масла мелиссы. Цель. Определение микродиагностических признаков и их биометрических характеристик травы мелиссы лекарственной сортобразца, интродуцированного в Никитском ботаническом саду, изучение возможности применения гистохимических реакций для анализа тканей и секреторных структур исследуемого вида. Материалы и методы. Растительный материал предоставлен лабораторией лекарственных растений НБС-ННЦ. Изучение микроскопических признаков, морфометрических характеристик, а также гистохимические тесты проводили согласно методикам Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания с помощью светового микроскопа Микромед-1, люминесцентного микроскопа Микромед 3 ЛЮМ и цифровой камеры Digital Eyepiece microscope camera MD 3.2. Фотографии редактировали в программе Paint.NET 3.5.11. Результаты. Основными диагностическими микроскопическими признаками травы сортобразца *Melissa officinalis L.* можно назвать: эпидермальные конусовидные одноклеточные волоски, простые многоклеточные волоски, головчатые волоски с многоклеточной ножкой и воронковидной головкой и с одноклеточной ножкой и шаровидной головкой, эфиромасличные железки радиального типа с 6–8 выделительными клетками. Данные признаки диагностируются и в измельченном сырье. Проведена количественная оценка морфологических и анатомических признаков листа (толщина листовой пластинки, высота клеток верхнего и нижнего эпидермиса, плотность устьиц на 1 мм<sup>2</sup> эпидермы), стебля, чашечки и венчика, проанализированы размеры клеток, устьиц, трихом, а также частота расположения трихом. Гистохимическими методами с помощью световой и флуоресцентной микроскопии изучено присутствие и локализация в тканях и трихомах сырья липидов, полисахаридов, фенольных соединений, флавоноидов, эфирного масла, терпеноидов, алкалоидов. Заключение. В ходе морфолого-анатомического исследования травы сортобразца мелиссы лекарственной из коллекции Никитского ботанического сада выявлены диагностически значимые микроскопические признаки сырья, установлены их биометрические характеристики. Впервые гистохимическими методами в тканях и секреторных структурах травы изучена локализация характерных секрецируемых биологически активных веществ. Результаты экспериментальных исследований дополняют данные научной литературы и могут быть использованы для подтверждения подлинности, идентификации и стандартизации надземной части данного сортобразца.*

**Ключевые слова:** мелисса лекарственная, *Melissa officinalis L.*, микродиагностика растений, интродукция, морфометрия, гистохимия

---

**Для цитирования:**

Никитина А.С., Логвиненко Л.А.,  
Никитина Н.В., Нигарян С.А.  
МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ  
ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ МЕЛИССЫ  
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ  
НИКИТСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА  
*Фармация и фармакология.* 2018;6(6): 504-534  
**DOI:**10.19163/2307-9266-2018-6-6-504-534  
© Никитина А.С., Логвиненко Л.А.,  
Никитина Н.В., Нигарян С.А., 2018

**For citation:**

Nikitina A.S., Logvinenko L.A.,  
Nikitina N.V., Nigaryan S.A.  
MORPHOMETRIC AND HISTOCHEMICAL  
RESEARCH OF MELISSA OFFICINALIS L. HERB  
FROM THE COLLECTION OF NIKITSKY  
BOTANIC GARDEN  
*Pharmacy & Pharmacology.* 2018;6(6): 504-534. Russian.  
**DOI:**10.19163/2307-9266-2018-6-6-504-534

---

## MORPHOMETRIC AND HISTOCHEMICAL RESEARCH OF MELISSA OFFICINALIS L. HERB FROM THE COLLECTION OF NIKITSKY BOTANIC GARDEN

**Nikitina A.S.<sup>1</sup>, Logvinenko L.A.<sup>2</sup>, Nikitina N.V.<sup>1</sup>, Nigaryan S.A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532*

<sup>2</sup>*Nikitsky Botanic Garden, Nikita, Yalta, Republic of Crimea, 298648, Russia  
E-mail: lina\_nikitina@mail.ru*

*The article presents the results of morphological-anatomical, morphometric and histochemical studies of the aerial part of *Melissa officinalis* L., a selection variety sample from the collection of Nikitsky Botanical Garden – National Science Center (NBG-NSC) of the Russian Academy of Sciences, Republic of Crimea. The data on the morphology, histochemistry and morphometry of the main diagnostic microscopic signs of the *Melissa officinalis* L. herb, which are crucial for establishing the authenticity of medicinal plant materials, and also show the localization of secretion of metabolites and the heterogeneous nature of *Melissa* essential oil, have been obtained. **The aim.** Is to determine the microdiagnostic signs and biometric characteristics of the *Melissa officinalis* L. variety sample, introduced in Nikitsky Botanical Garden, to study the possibility of using histochemical reactions for the analysis of tissues and secretory structures of the studied species. **Materials and methods.** The plant material was provided by Nikitsky Botanical Garden. The study of microscopic signs, morphometric characteristics as well as histochemical tests, were performed according to the methods of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII edition, using a Micromed-1 light microscope, a Micromed Micrometer 3 LUM fluorescent microscope and a Digital Eyepiece microscope camera MD 3.2 digital camera. The photos were edited in the program Paint.NET.3.5.11. **Results.** The main diagnostic microscopic signs of the herb of the *Melissa officinalis* L. selection variety sample can be called as follows: simple unicellular conical, nonbranching hairs, simple multicellular conical hairs, capitate hairs with a multicellular leg and a funnel-shaped head and with a unicellular leg and a spherical head, essential oil glands of a radial-type with 6-8 excretory cells. These signs have been diagnosed in the crushed raw materials. A quantitative assessment of the morphological and anatomical signs of the leaf (leaf thickness, height of the cells of the upper and lower epidermis, stoma density per 1 mm<sup>2</sup> of the epidermis), stem, calyx and corolla was carried out. The size of cells, stoma, trichomes, as well as the frequency of the location of trichomes have been analyzed, too. The presence and localization of lipids, polysaccharides, phenolic compounds, flavonoids, essential oil, terpenoids, alkaloids in tissues and trichomes of the herb have been studied by histochemical methods using light and fluorescent microscopy. **Conclusion.** Morphological and anatomical study of the herb of the *Melissa officinalis* L. selection variety sample from the Nikitsky Botanical Garden collection has been carried out, diagnostically significant microscopic signs of raw materials have been revealed and their biometric characteristics have been established. For the first time the localization of characteristic secreted biologically active substances in the tissues and secretory structures of the herb has been studied by histochemical methods. The results of the experimental studies complement the scientific literature data and can be used to confirm the authenticity, identification and standardization of the aerial parts of this variety sample.*

**Keywords:** *Melissa officinalis* L., microscopy, introduction, morphometry, histochemistry

**ВВЕДЕНИЕ.** Эколого-географические условия интродукции лекарственных растений оказывают определяющее влияние на химический состав биологически активных веществ растений, а также на биологические особенности развития. Методом микроскопического анализа изучается анатомическое строение растения, устанавливаются характерные анатомо-диагностические и морфометрические характеристики. Химические и физико-химические методы исследования позволяют идентифицировать действующие и сопутствующие вещества в растениях. К таким методам относится гистохимический анализ, позволяющий выявлять закономерности процесса секреции биологически активных веществ и устанавливать их присутствие и локализацию в тканях и органах растения. В свою очередь подобные

исследования иллюстрируют отличительные особенности метаболизма железистых трихом и тканей различных хемотипов одного вида растения. В Никитском ботаническом саду – Национальном научном центре (НБС-ННЦ) РАН, Республика Крым, г. Ялта в лаборатории ароматических и лекарственных растений традиционно проводятся многолетние биологические и интродукционные исследования особенностей развития различных сортов лекарственных растений. Мелисса лекарственная (*Melissa officinalis* L.) является одним из видов семейства яснотковые, интродуцированных на опытном участке эфиромасличных растений ботанического сада [1, 2].

Мелисса лекарственная – *Melissa officinalis* L. (синонимы: *Faucibarba officinalis* (L.) Dulac., *Mutelia officinalis* (L.) Gren. ex Mutel, *Thymus melissa* E.H.L.

Krause, Citronell, Common balm) – один из 5 видов рода мелисса (*Melissa*) семейства яснотковых – *Lamiaceae*. Растение известно под другими названиями: мелисса лимонная, лимонная мята, лимонная трава, медовка, пчельник. Мелисса лекарственная распространена в странах Европы, Африки, Северной Америке, в Иране, на Украине, Кавказе и в Средней Азии. Трава мелиссы лекарственной культивируется как лекарственное и эфиромасличное растение в Великобритании, Сербии, Алжире, странах Средиземноморья, на Кавказе, в Краснодарском крае, Самарской области, в Крыму [3–5].

Трава мелиссы лекарственной характеризуется высоким содержанием фенилпропаноидов (розмариновая, кофейная, хлорогеновая, пара-кумаровая, феруловая и синаповая кислоты), флавоноидов (лютеолин, цинароэозид, апигенин, космосин), фенолкарбоновых кислот (сиреневая, гентизиновая, салициловая, ванилиновая, пара-гидроксибензойная, протокатеховая), конденсированных дубильных веществ [6, 7]. По данным зарубежных исследователей в траве мелиссы лекарственной идентифицированы олеаноловая и урсоловая кислоты [8]. В эфирном масле преобладают монотерпены (цитраль) [9].

Надземную часть мелиссы лекарственной применяют в этномедицине стран Европы. Во Франции, Италии, Австрии, Германии и Болгарии мелиссу используют при трофических язвах в качестве ранозаживляющего средства, кожных сыпях, фурункулах кожи, для полоскания при воспалении десен; наружно для массажа и растираний, для припарок и компрессов, изготовления косметических средств [4, 10, 11]. Надземная часть и листья мелиссы являются официальным сырьем в странах Европы. Растение включено в Европейскую Фармакопею, Британскую Травяную Фармакопею, в Иранскую Травяную Фармакопею. В России данный вид сырья стал официальным с 1996 года, разработан проект ФС «Мелиссы лекарственной травы» (взамен ФС 42-3645-98) (материалы по проектам общих фармако-

пейных статей и фармакопейных статей <https://www.rosminzdrav.ru/61/11/> materially-po-farmakopee) [12]. Фармакологические исследования показывают, что препараты мелиссы проявляют легкое снотворное действие, оказывают успокаивающее, спазмолитическое воздействие [13–16]. Характерно повышение аппетита и стимуляции секреции желудочного сока, усиление моторики желудка, проявление желчегонного и ветрогонного действия препаратов на основе травы мелиссы [4, 17]. Трава мелиссы обладает гипогликемическими, вяжущими свойствами, стимулирует менструации [18]. Альдегиды растения (цитраль, цитронелал) оказывают противомикробную активность в отношении ряда патогенных грибов и микобактерий туберкулеза (К. Okazaki и S. Oshima, 1953 г.). Розмариновая кислота обуславливает противовирусную активность в отношении вирусов герпеса, гриппа, противоаллергическое и антиоксидантное действие, антракомплементарные и антирадикальные свойства мелиссы [19].

**ЦЕЛЬ** – определить микродиагностические признаки и их биометрические характеристики для травы мелиссы лекарственной сортообразца из коллекции Никитского ботанического сада ННЦ РАН, изучить возможность применения гистохимических реакций для анализа тканей и секреторных структур исследуемого вида при установлении подлинности сырья и идентификации биологически активных веществ, ввиду отсутствия литературных данных общего гистохимического исследования.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Сыре. Растительным объектом исследования явилась надземная часть мелиссы лекарственной, интродуцированной на опытном участке НБС-ННЦ. Исследования биологических особенностей вегетации данного сортообразца в эколого-географических условиях Южного берега Крыма на протяжении нескольких лет проводятся старшим научным сотрудником Никитского Ботанического сада Логвиненко Л.А. (рис. 1).



**Рисунок 1 – Внешний вид *Melissa officinalis* L. сортообразец из коллекции НБС-ННЦ, Республика Крым, г. Ялта**

Анализируемое сырье заготовлено в период цветения в июле 2016 г., представляет собой смесь стеблей (до 35 см), листьев и цветков. Сушку сырья проводили при 25–30°C, избегая воздействия прямых

солнечных лучей, в течение 7 дней. Влажность травы мелиссы лекарственной после высыпивания составила  $8,79 \pm 0,36\%$ .

**Микроскопические исследования.** Анализ микро-

скопических признаков сырья, морфометрические и гистохимические исследования проводили согласно методикам Государственной фармакопеи РФ XIII издания (ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов», ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» [20, 21]) с помощью микроскопа «Микромед-1» и люминесцентного микроскопа «Микромед 3 ЛЮМ» с окуляром 10×, объективами 4×, 10×, 40× и цифровой камеры Digital Eyepiece microscope camera MD 3.2 (3.2 megapixels). **Гистохимические исследования.** Гистохимические реакции на наличие и локализацию биологически активных компонентов в тканях, пельтатных и головчатых трихомах проводили с помощью растворов реагентов: судан III (жирные, эфирные масла, кутин, суберин); метиленовый синий (эфирное масло); 10% раствор тимола и к. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (сахара, крахмал, инулин), концентрированная хлористоводородная или серная кислота (сесквитерпеновые лактоны); железа (III) хлорид и калия дихромат (фенольные соединения); магния ацетат и свинца ацетат основной (флавоноиды, флуоресценция в УФ-свете), алюминия хлорид (флавоноиды, голубая флуоресценция в УФ-свете); ванилин и концентрированная хлористоводородная кислота (флавоноиды), реагент Вагнера (алкалоиды), фтороглюцин с концентрированной хлористоводородной кислотой (лигнин), 2,4-динитрофенилгидразин (терпеноиды) [22–31]. Фотографии редактировали в программе Paint.NET 3.5.11, совмещая фотографии объекта-микрометра (цена деления микролинейки 0,01 мм или

10 мкм) и полученные фотографии объекта исследований при каждом рабочем увеличении объектива микроскопа и разрешении используемой цифровой фотокамеры. **Статистическая обработка.** Выборка составляла 10 измерений, статистическую обработку проводили в программе Microsoft Excel (Microsoft, США). Обнаруженные внешние и микроскопические признаки исследуемого сырья сопоставляли с литературными данными [11, 12].

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Исследование морфологических особенностей надземной части мелиссы лекарственной показало, что листья растения данного сортообразца с верхней стороны зеленого цвета, с нижней стороны светло-зеленого цвета, коротко-черешковые, яйцевидные, супротивные, с городчатым краем, перистым жилкованием, заостренной верхушкой. Листовая пластинка опушена с верхней стороны по жилкам, нижняя сторона опушена полностью; длиной до 3,2 см, шириной до 2,5 см. Стебли серо-зеленого цвета четырехгранные, с продольными желобками, в верхней и средней части опушение слабо выражено, в нижней части стебли голые. На изломе стебель бело-зеленого цвета, с полостью внутри в нижней части. Цветки мелкие (чашечка 5–7 мм, венчик 7–9 мм длиной), собраны в пазухах верхних листьев ложными мутовками и образуют в верхней части стебля соцветие типа тирс длиной 5–10 см. Венчик двугубый, опущенный, белого или бело-розового цвета. Чашечка воронковидная с пятью заостренными зубцами, опущенная (рис. 2). Сырец обладает лимонным запахом, усиливающимся при растирании. Вкус водного извлечения горьковатый.

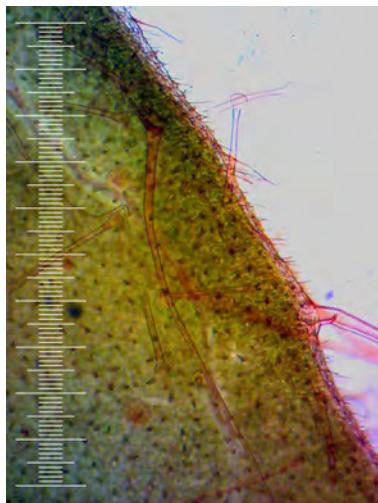


**Рисунок 2 – Внешний вид травы (стебли, листья, цветки) *Melissa officinalis L.* сортообразец из коллекции НБС-ННЦ**

1 – цельное сырье; 2, 3, 4 – резаное сырье, 5 – порошок травы мелиссы лекарственной

Микроскопические исследования проводили на временных микропрепаратах, приготовленных из высушенного сырья по общепринятым методикам [20]. При микроскопировании временных микропрепаратов исследуемого объекта отмечали, что ткани растения, содержащие эфирное масло (железки и трихомы), пигментированы. Адаксиальная сторона листовой пластинки покрыта слоем кутикулы. Эпидермис адаксиальной и абаксиальной сторон листа

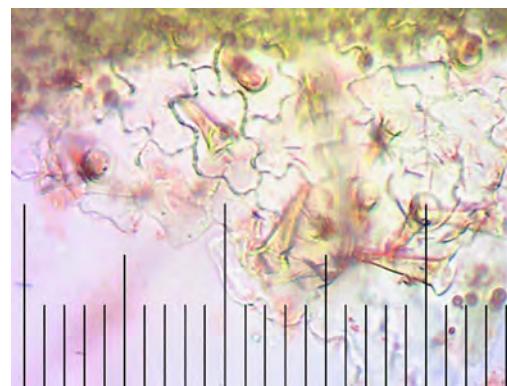
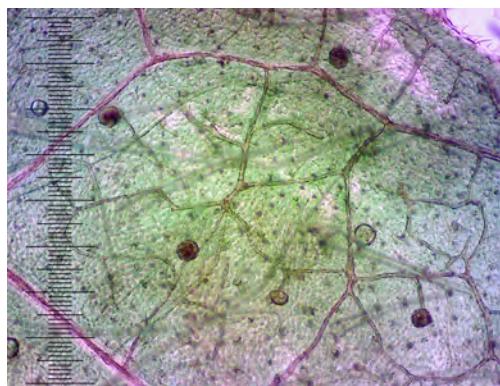
состоит из одного слоя клеток. При рассмотрении микропрепарата края листа мелиссы лекарственной с поверхности отмечено большое количество простых одноклеточных конусовидных неветвящихся волосков (II тип) длиной 20–50 мкм (рис. 3), при основании которых характерно формирование складок кутикулы. Такой тип простых кроющих трихом характерен как для адаксиальной, так и для абаксиальной сторон листа.



**Рисунок 3 – Микропрепарат края листовой пластинки *Melissa officinalis* L. (ув. 4×, 10×)**

Клетки верхнего эпидермиса листа различной формы с извилистыми стенками без утолщений, клетки нижнего эпидермиса имеют более извилистые стенки. На нижней стороне листа присутствуют устьица, устьичный аппарат диацитного типа. Для нижнего эпидермиса характерны многоклеточные конусовидные волоски, состоящих из 2–4 клеток с утолщенными стенками (I тип) и головчатые волоски двух типов: с одноклеточной удлиненной

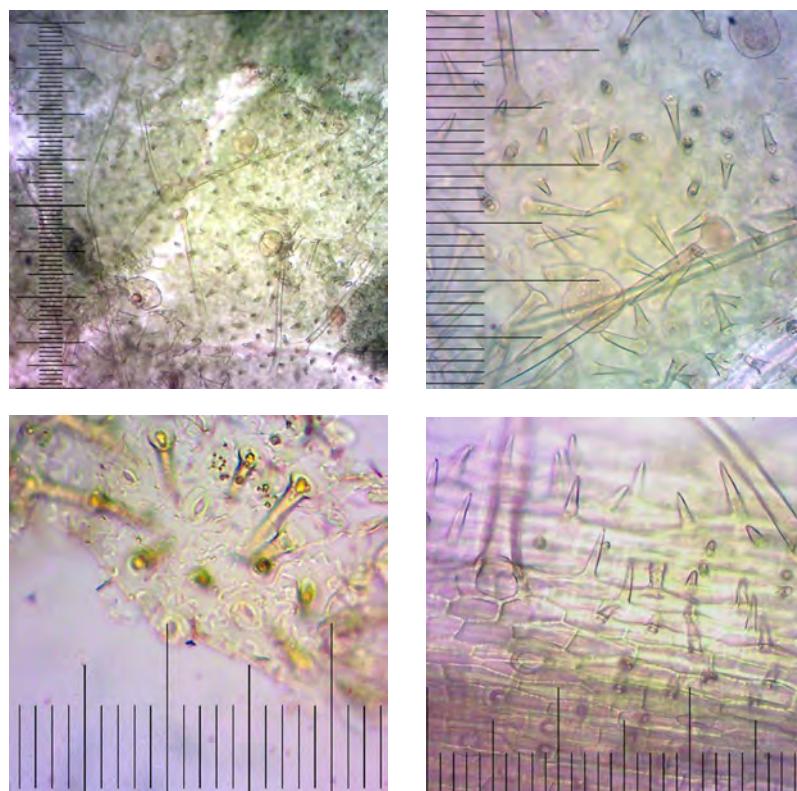
ножкой и воронковидной головкой (тип I) и с короткой одноклеточной ножкой и шаровидной головкой (тип II). Эфиромасличные железки радиального типа не погружены в мезофилл, состоят из короткой одноклеточной ножки и шаровидной головки с восьмью выделительными клетками. В местах прикрепления эфиромасличных железок эпидермальные клетки образуют розетку, как правило, из 5–6 клеток эпидермиса (рис. 4, 5).



**Рисунок 4 – Микропрепарат адаксиального эпидермиса листовой пластинки *Melissa officinalis* L. (ув. 4×, 10×)**

Железистые трихомы имеют кутикулярное покрытие более утолщенное, чем эпидермис, расположены преимущественно на абаксиальной стороне листа и по главной жилке. Экспериментальные исследования показали, что на 1 мм<sup>2</sup> абаксиальной

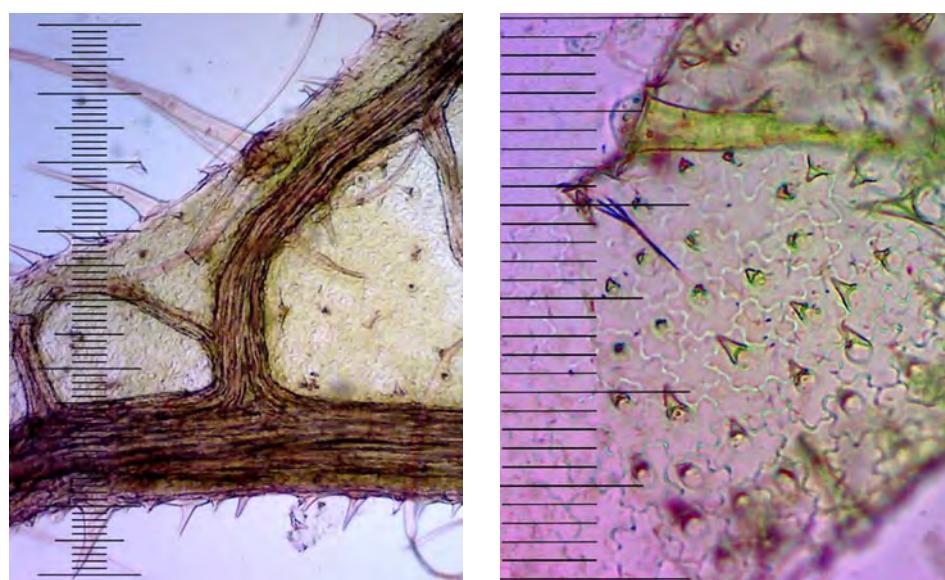
стороны листовой пластинки располагаются 200–400 устьиц, до 80–100 простых одноклеточных конусовидных неветвящихся волосков, 10–12 эфиромасличных железок на расстоянии 100–150 мкм друг от друга.



**Рисунок 5 – Микропрепарат абаксиального эпидермиса листовой пластинки *Melissa officinalis* L.  
(ув. 4×, 10×)**

Клетки эпидермиса чашечки различные по форме, характеризуются сильноизвилистыми стенками без утолщений, у основания чашечки и по краю присутствует складчатая кутикула, устьичный аппарат диацитного типа, устьица располагаются редко либо отсутствуют (рис. 6). На рисунке 6 показаны конусовидные одноклеточные волоски, мно-

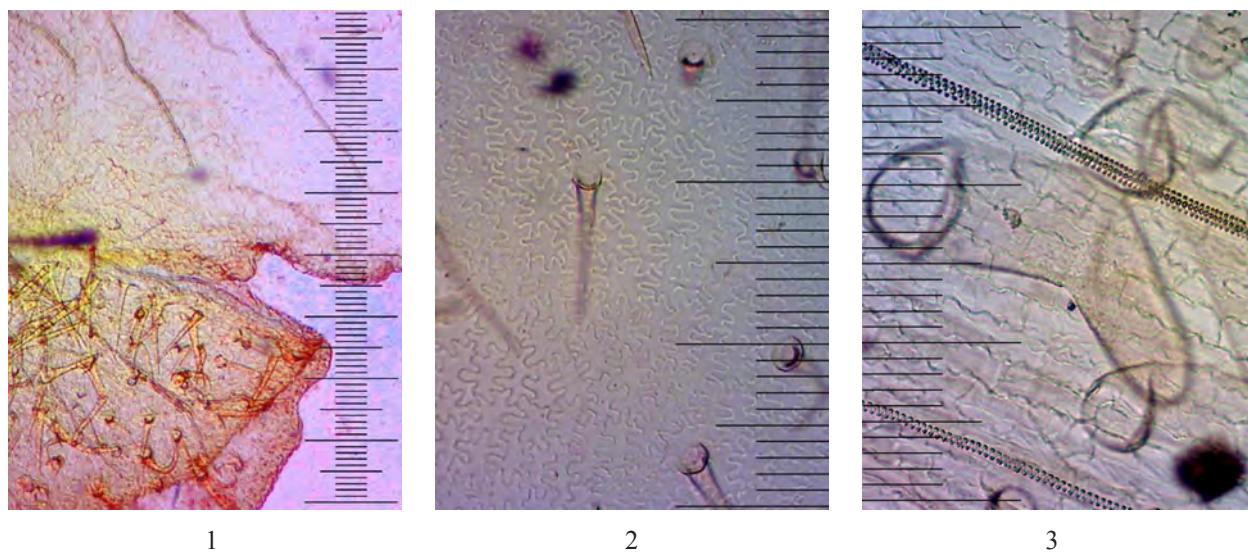
гоклеточные конусовидные волоски, состоящие из 2–4 клеток с утолщенными стенками, эфиромасличные железки, головчатые волоски с одной базальной клеткой (тип II). В нижней части чашечки присутствуют сосудистые пучки, окруженные пористыми толстостенными одревесневшими склеренхимными волокнами.



**Рисунок 6 – Микропрепарат эпидермиса чашечки *Melissa officinalis* L. (ув. 4×, 10×)**

Клетки наружного эпидермиса прямоугольной формы, характеризуются извилистыми стенками с утолщениями, у основания и по краю со складчатой кутикулой, имеются немногочисленные

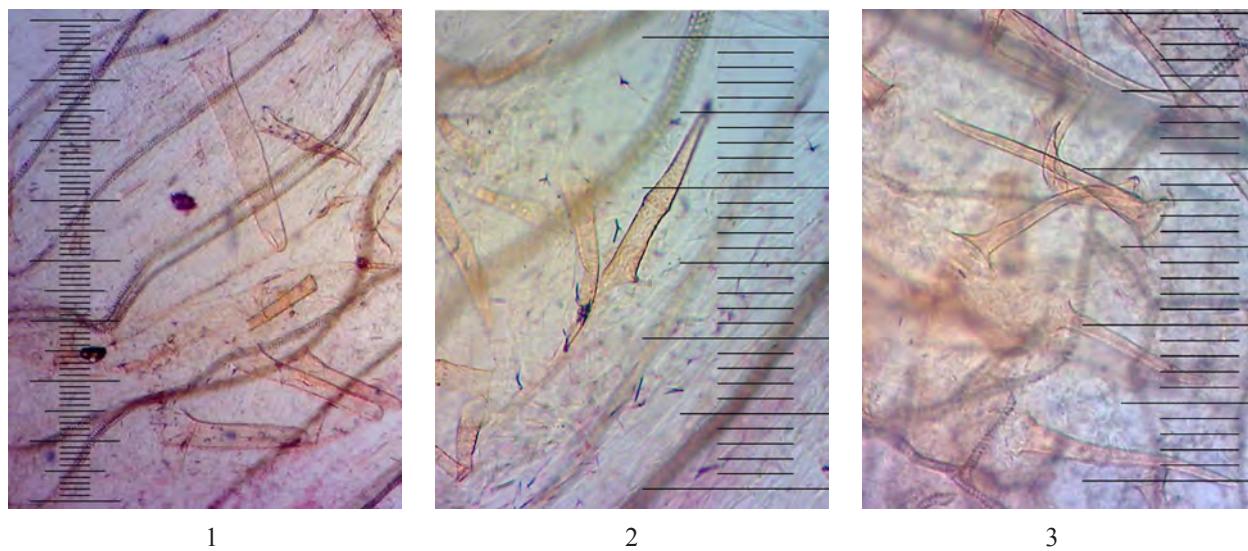
характерные устьица. Клетки внутреннего эпидермиса венчика многоугольные, извилистостенные. Клетки основания венчика прямоугольные, с извилистыми антиклинальными стенками (рис. 7).



**Рисунок 7 – Микропрепарат эпидермиса венчика *Melissa officinalis* L. (ув. 4×, 10×)**  
1 – препарат с поверхности лопасти венчика; 2 – клетки наружного эпидермиса венчика;  
3 – клетки основания венчика с пальцевидными волосками

С обеих сторон эпидермис венчика покрыт большим количеством длинных простых многоклеточных волосков с мелкобородавчатой кутикулой и простых одноклеточных конусовидных волосков. На внутрен-

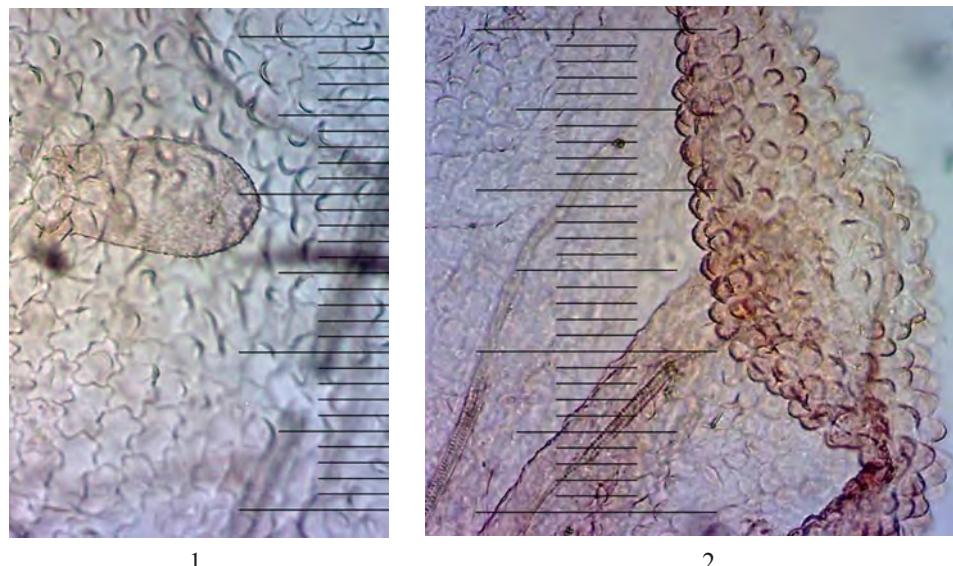
ней стороне венчика присутствуют эфиромасличные железки и головчатые волоски. Характерно наличие пальцевидных эпидермальных волосков с бородавчатой кутикулой (рис. 8).



**Рисунок 8 – Трихомы эпидермиса венчика *Melissa officinalis* L. (ув. 4×, 10×)**  
1 – пальцевидные волоски лопасти венчика; 2 – простые многоклеточные волоски с мелкобородавчатой кутикулой; 3 – простые одноклеточные конусовидные волоски

На лопастях венчика клетки эпидермиса многоугольные со слабо извилистыми стенками с утолщениями,

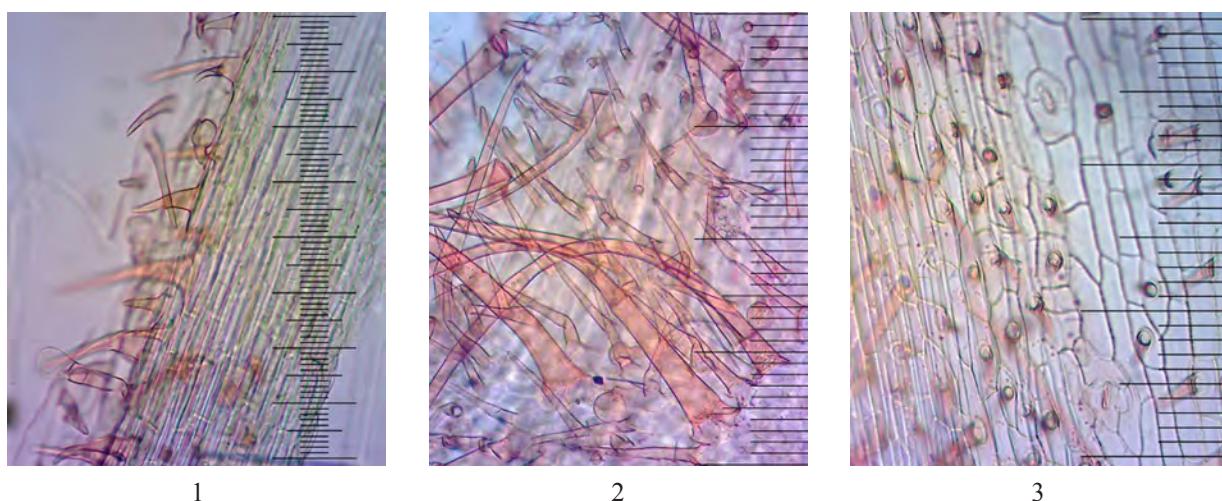
расположены черепитчато, присутствуют пальцевидные волоски с мелкобородавчатой кутикулой (рис. 9).



**Рисунок 9 – Микропрепарат эпидермиса венчика *Melissa officinalis* L. (ув. 4×, 10×)**  
1 – клетки верхней части эпидермиса венчика с пальцевидными волосками мелкобородавчатой кутикулой; 2 – клетки лопасти венчика

Эпидермис стебля представлен небольшими многоугольными вытянутыми клетками с прямыми стенками. Устьичный аппарат диацитного типа, устьичная щель ориентирована вдоль стебля. Диагностированы многочисленные простые и железистые выросты эпидермиса, расположенные в основном на

ребрах стебля. В большом количестве присутствуют простые, крупные многоклеточные волоски (I тип) с ровной кутикулой и одноклеточные конусовидные волоски (II тип). В верхней зоне стебля располагаются головчатые волоски типа II, редкие эфиромасличные желёзки (рис. 10).



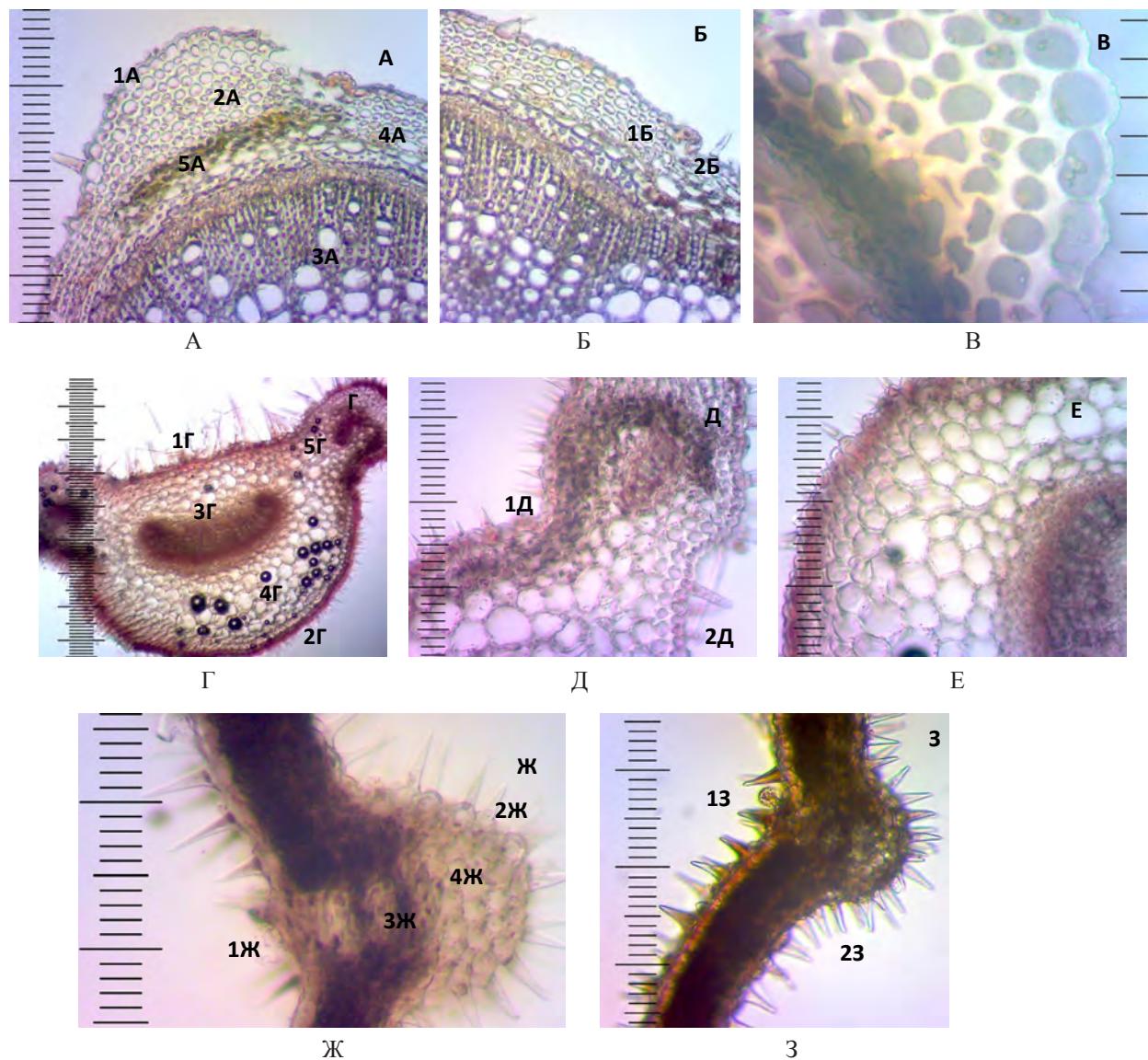
**Рисунок 10 – Микропрепарат эпидермиса стебля *Melissa officinalis* L. (ув. 4×, 10×)**  
1 – препарат с поверхности; 2 – трихомы эпидермиса стебля;  
3 – клетки и устьичный аппарат эпидермиса стебля

Стебель на поперечном сечении четырехгранный. Эпидермис покрыт тонкой кутикулой. Клетки эпидермиса овальной, квадратной или прямоугольной формы, расположены в один слой. Под эпидермисом в углах стебля размещаются 4–8 слоев клеток углковой колленхимы, локально залегают по 2–3 слоя клеток хлоренхимы. Клетки эндодермы овальной формы, расположены в один слой, содержат крахмальные зерна. Кора состоит из 4–10 слоев паренхимных клеток неправильной овальной или прямоугольной формы с межклеточным пространством, частично представлены клетки перициклической склеренхимы. Лубяные

волокна флоэмы, клетки камбия, сосуды и трахеиды ксилемы проводящие пучки не образуют. Камбий состоит из 1–2 слоев клеток, выражен нечетко. Клетки сердцевины стебля представлены выполняющей паренхимой, крупные многоугольные или округлые, центробежно уменьшающиеся в размере (рис. 11). На поперечном сечении листовой пластинки видно, что верхний и нижний эпидермис покрыты тонким слоем кутикулы. Толщина обеих кутикул эпидермиса почти одинакова. Большое количество простых конусовидных волосков расположено на эпидермисе с верхней и нижней стороны, железистых волосков больше на

абаксиальном эпидермисе, особенно по жилкам. Эпидермальные клетки расположены в один ряд, по форме овальные, округлые или прямоугольные. Клетки верхнего эпидермиса больше, чем на нижнем эпидермисе, или почти равны им. Мезофилл листа состоит из одного слоя удлиненных прямоугольных клеток палисадной паренхимы и 2–4 слоев изодиаметральных клеток губчатой паренхимы с крупными межклетниками. Результаты измерения клеток приведены в таблице 1 (рис. 11). На поперечном сечении черешка видно, что адаксиальная поверхность вогнутая и абаксиальная по-

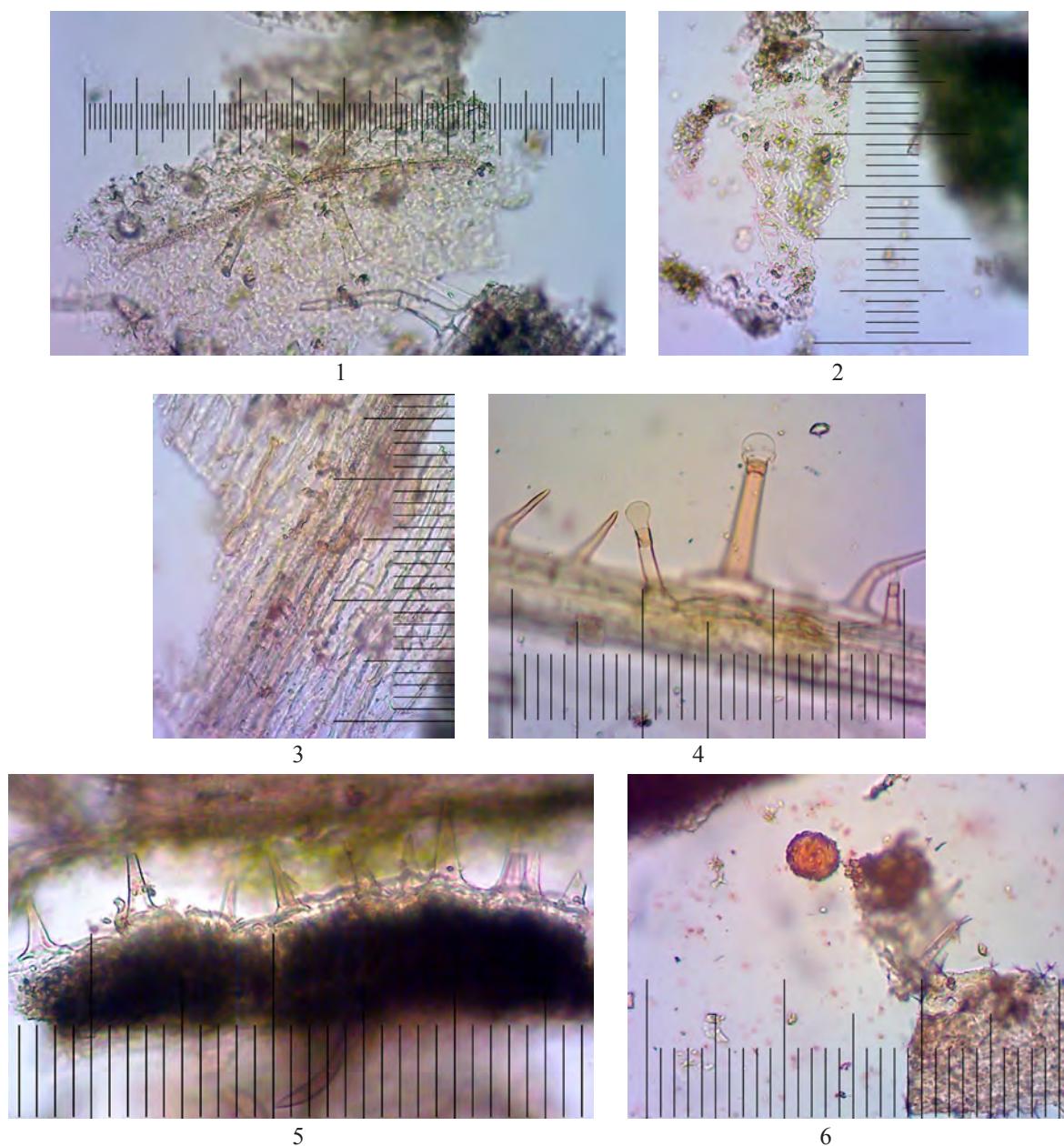
верхность выпуклая. На обеих сторонах черешка присутствуют простые и железистые трихомы. Эпидермис состоит из 1–2 слоев клеток овальной, округлой или прямоугольной формы. Клетки паренхимы крупные шестиугольные или округлые, в диаметре достигают 30 мкм. В центре расположен крупный дуговидный коллатеральный проводящий пучок, присутствуют два небольших коллатеральных пучка в крыльях черешка. На адаксиальной поверхности в крыльях черешка расположена колленхима из 2–3 слоев клеток и локально 1–2 слоя клеток хлоренхимы (рис. 11).



**Рисунок 11 – Микропрепараты поперечных срезов стебля, черешка и листа *Melissa officinalis* L.**  
 А, Б (ув. ×10), В (ув. ×40) – поперечный срез стебля: 1А – эпидермис; 2А – колленхима; 3А – сосуды; 4А – паренхима коры; 5А – хлоренхима. 1Б – устьичный аппарат; 2Б – простой волосок. Г (ув. ×4), Д, Е (ув. ×10) – поперечный срез черешка: 1Г – адаксиальный эпидермис, 2Г – абаксиальный эпидермис, 3Г – центральный проводящий пучок, 4Г – паренхима, 5Г – боковой дополнительный проводящий пучок, 1Д – простые конусовидные волоски, 2Д – головчатые волоски. Ж, З (ув. ×10) – поперечный срез листа: 1Ж – адаксиальный эпидермис, 2Ж – абаксиальный эпидермис, 3Ж – проводящий пучок, 4Ж – паренхима; 1З – головчатый волосок, 2З – простые конусовидные волоски. Цена деления 10 мкм

При рассмотрении препаратов порошка травы мелиссы лекарственной наблюдали обрывки эпидермиса листа, стебля, венчика и чашечки с характерны-

ми трихомами, пыльцевые зерна. Пыльцевые зерна сферические, со слегка бородавчатой экзиной и порами (рис. 12).



**Рисунок 12 – Микропрепарат порошка травы *Melissa officinalis* L. (ув. 4×, 10×)**

1 – фрагмент эпидермиса листа; 2 – фрагмент эпидермиса чашечки; 3 – фрагмент эпидермиса стебля; 4 – железистые волоски; 5 – простые конусовидные волоски; 6 – пыльцевые зерна. Цена деления 10 мкм

В таблицах 1 и 2 приведены результаты экспериментальных исследований биометрических характеристик основных микроскопических признаков тра-

вы *Melissa officinalis* L. сортообразца из коллекции НБС-ННЦ и характер расположения трихом по надземным органам растения.

**Таблица 1 – Количество-анатомические показатели травы *Melissa officinalis* L. сортообразца из коллекции НБС-ННЦ**

Микроскопическая структура	Размеры, мкм	
	Длина, мкм	Ширина, мкм
Клетки верхнего эпидермиса листа	60–70	50–60
Клетки нижнего эпидермиса листа	40–50	30–40
Клетки эпидермиса чашечки	50–60	30–40
Клетки эпидермиса венчика	60–70	20–40
Клетки эпидермиса стебля	50–60	10–20
Длина простых многоклеточных волосков (I тип)	100–400	
Длина головчатых волосков	1. I тип 2. II тип	
	1 – 30–50, 2 – 60–300	

Микроскопическая структура	Размеры, мкм	
	Длина, мкм	Ширина, мкм
Длина простых конусовидных волосков (II тип)	20–50	
Длина пальцевидных волосков эпидермиса венчика (III тип)	100–250	
Число эфиромасличных железок в 1 мм <sup>2</sup> , шт.	10–12	
Диаметр железок	40–80	
Устьичный аппарат диаметр, мкм	20	
Число устьичных аппаратов на 1 мм <sup>2</sup> абаксиальной стороны листовой пластинки располагается устьиц, шт.	200–400	
Толщина листа, мкм	50–70	
Толщина эпидермиса листа, мкм адаксиального абаксиального	7–10 10–15	

**Таблица 2 – Распределение железистых волосков, железок и простых волосков и выростов эпидермы на надземных органах *Melissa officinalis L.* сортовообразца из коллекции НБС-ННЦ**

Часть растения	Железистые волоски, тип I/II	Железки	Простые волоски типа I/II
Стебель	+	+	++
Адаксиальная сторона листа	–	+	++
Абаксиальная сторона листа	+++	+++	+++
Черешок	+	–	+++
Чашечка	+	+	++
Венчик	+	–	++

Примечание: (–) отсутствие трихом, (+) немного трихом, (++, +++) большое количество трихом

Использование гистохимических тестов показало характерное окрашивание тканей и трихом, которое является результатом взаимодействия реагентов с детектируемыми компонентами и при-

водит к их специальному связыванию [22–31]. Результаты обнаружения вторичных метаболитов в трихомах и тканях мелиссы представлены в таблице 3.

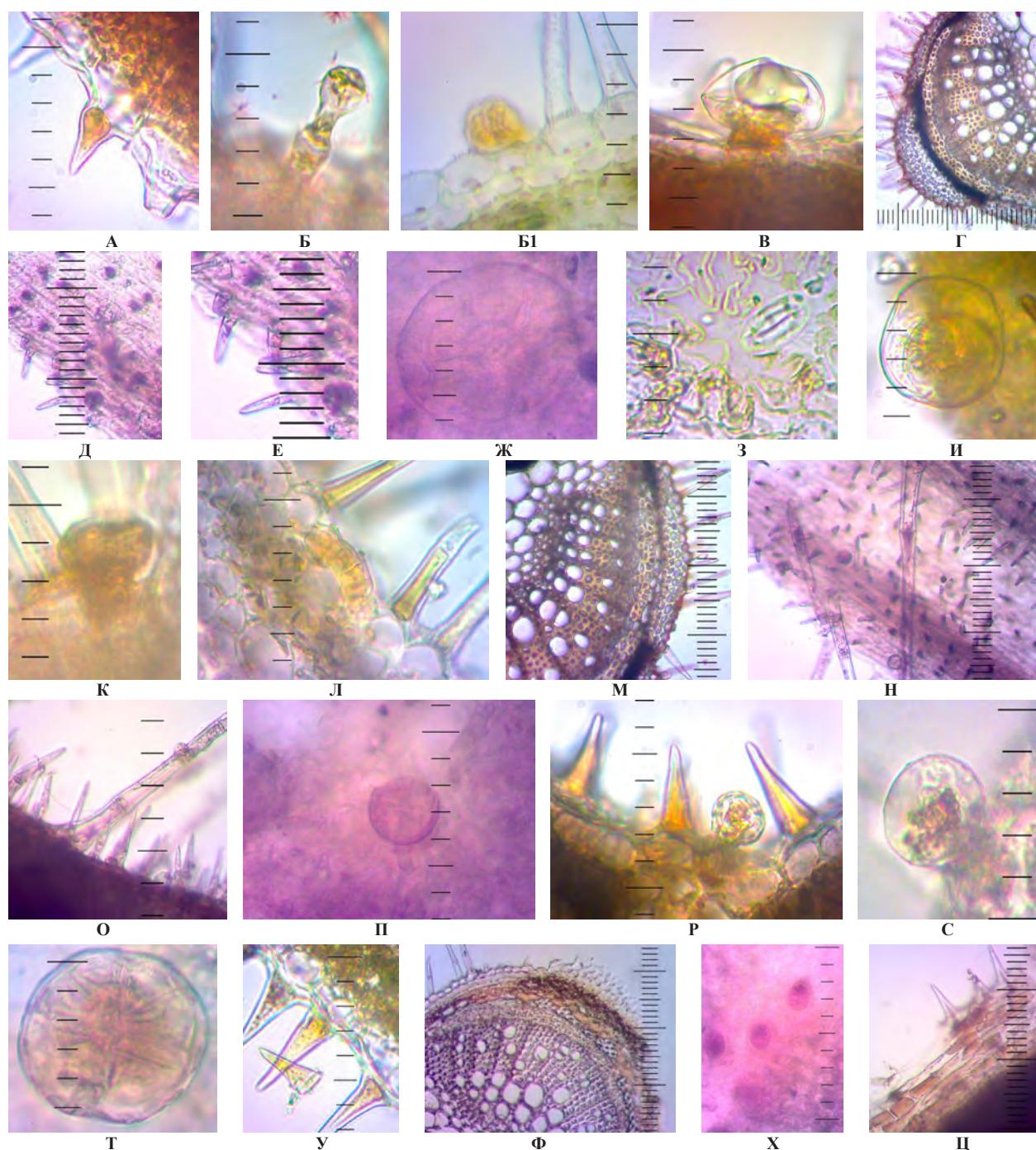
**Таблица 3 – Гистохимия тканей и железистых трихом травы *Melissa officinalis L.***

Определяемый компонент	Реактив	Окрашивание	Тип трихом		
			простые	железистые	железка
Липиды, суберин, кутин	Судан III	Красный	+(Рис. 13А)	+(Рис. 13Б, Б1)	+(Рис. 13В)
Эфирное масло	Судан III	Оранжево-красный	–	+ (Рис. 13Б, Б1)	+ (Рис. 13В)
Эфирное масло	Метиленовый синий	Синий	–	+ (Рис. 13ДЕ)	+ (Рис. 13Ж)
Терпеноиды	2,4-динитрофенилгидразин	Черно-синее	+ (Рис. 13Н)	+ (Рис. 13О)	+ (Рис. 13П)
Сесквитерпеновые лактоны	к. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Желтый	–	–	–
Флавоноиды	Ванилин, к. HCl	Желтый, красный	+ (Рис. 13З)	–	+ (Рис. 13И)
Флавоноиды	Ацетат магния	Желтый	+ (Рис. 13Р)	+ (Рис. 13Р)	–
Фенольные соединения	10% спиртовой раствор калия бихромата	Желтый	+ (Рис. 13У)	+ (Рис. 13С)	+ (Рис. 13Т)
Фенольные соединения	Железа (III) хлорид	Коричневый, зелено-черный	+ (Рис. 13Л)	+ (Рис. 13К)	–
Алкалоиды	Реактив Вагнера	Черный	–	–	–
Лигнин	Флороглюцин, к. HCl	Красный, фиолетовый	–	–	–
Полисахариды (крахмал, инулин)	10% раствор тимола, к. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Оранжево-красный	+ (Рис. 13ХЦ)	–	–

Примечание: – отрицательная реакция; + положительная реакция

Для гистохимического анализа секретирующего материала использовали несколько методов окрашивания. Для подтверждения присутствия гидрофобных метаболитов липидов и эфирного масла препараты окрашивали раствором реактива судан III, наблюдали окрашивание кутикулы эпидермиса стебля, кутикулы ножки и внутриклеточного содержимого головки железистых волосков, кутикулы простых волосков, а также внутриклеточного содержимого эфиромаслич-

ных железок в оранжево-розовый цвет (рис. 13 А–Г). Для идентификации эфирных масел применялся раствор метиленового синего в этиловом спирте [22, 24]. После обработки поверхностных микропрепаратов листа раствором метиленового синего наблюдали, что содержимое эфиромасличных железок и железистых волосков окрашивалось в синий цвет (рис. 13 Д, Е, Ж). Полученный результат свидетельствует о наличии эфирного масла в этих структурах.



**Рисунок 13 – Результат гистохимических реакций**

с суданом III: А–В – трихомы (ув. ×40); Г – поперечный срез стебля (ув. ×10); с метиленовым синим: Д, Е (ув. ×10), Ж (ув. ×40) – трихомы; с ванилином и к. НСl: З, И – эпидермис стебля, железка (ув. ×40); с железом (III) хлоридом: К, Л – трихомы (ув. ×40), М – поперечный срез стебля (ув. ×10); с 2,4-динитрофенилгидразином: Н – трихомы (ув. ×10), О, П (ув. ×40); с магния ацетатом: Р – трихомы (ув. ×40); с калием бихроматом: С, Т, У – трихомы (ув. ×40); с фтороглюцином с к. НСl: Ф – поперечный срез стебля (ув. ×10); с 10% раствором тимола и к. Н<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: Х – трихомы (ув. ×40), Ц (ув. ×10)

Обработка микропрепараторов листа кислотой серной концентрированной показала, что трихомы и ткани листа не окрашиваются в желто-оранжевый цвет, что предполагает отсутствие сесквитерпеновых и стероидных соединений в исследуемом сырье. Поперечные срезы стебля и листа в области главной жилки окрашивали 1% раствором железа (Ш) хлорида. При этом наблюдалось черно-зеленое окрашивание по всей поверхности препаратов, что также свидетельствует о наличии фенольных соединений (рис. 13 К, Л, М). При добавлении раствора ванилина и кислоты хлористоводородной концентрированной ткани, секрецииющие флавоноиды, окрасились в желтый цвет (рис. 13 З, И). Окрашивание реактивом Вагнера на присутствие алкалоидов не сопровождалось аналитическим эффектом. Исследуемый растительный материал помещали в 10% спиртовой раствор калия бихромата на 7 суток, после чего проводили микроскопию сырья. Фенольные соединения обнаруживались в окрашенном содержимом клеток трихом (рис. 13 С, Т, У). Для установления присутствия терпеноидов проводили реакцию с 2,4-динитрофенилгидразином (рис. 13 Н, О, П), клеточные стенки простых трихом и содержимое железок окрасилось в черно-синий цвет. При обработке микропрепараторов раствором магния ацетата клеточное содержимое простых волосков и головчатых трихом окрасилось в желто-оранжевый цвет, что демонстрирует накопление флавоноидов (рис. 13 Р). Присутствие лигнина устанавливали реакцией с

флороглюцином и концентрированной кислоты хлористоводородной, на поперечном срезе стебля наблюдали окрашивание оранжево-розовым цветом клеток перициклической склеренхимы (рис. 13 Ф); Результат гистохимической реакции с 10% раствором тимола и к.  $H_2SO_4$  показал наличие углеводов в клетках эпидермиса стебля (рис. 13 Х, Ц) и в клеточном содержимом простых конусовидных волосков.

В таблице 4 приведены результаты микроскопирования тканей и трихом *M. officinalis* L. при различной УФ-идентификации. Ткани и кутикула трихом, излучающие ярко-зеленую автофлуоресценцию в УФ-свете демонстрируют присутствие гидрофобных веществ суберина и кутина (рис. 14 А–Е) [30, 31]. У железистых трихом наблюдали яркую желтую автофлуоресценцию липофильного и гидрофильного внутриклеточного содержимого, мезофилл листа светился желтовато-зеленым светом. Слабая желтая автофлуоресценция наблюдалась у внутриклеточного содержимого головки железки, железистых трихом обоих типов и кутикулы простых волосков (рис. 14 А, Б, Д), что указывало на присутствие фенольных соединений. В клетках мезофилла листа отмечена яркая красная автофлуоресценция в УФ-свете, что может быть следствием присутствия хлорофилла (рис. 14 Б, Е). На поперечном срезе стебля в УФ-свете (светофильтр Green (G-2A)) клетки эндодермы, флоэмы и паренхимы сердцевины стебля приобретали красное свечение из-за присутствия веществ фенольной природы (рис. Ж, З).

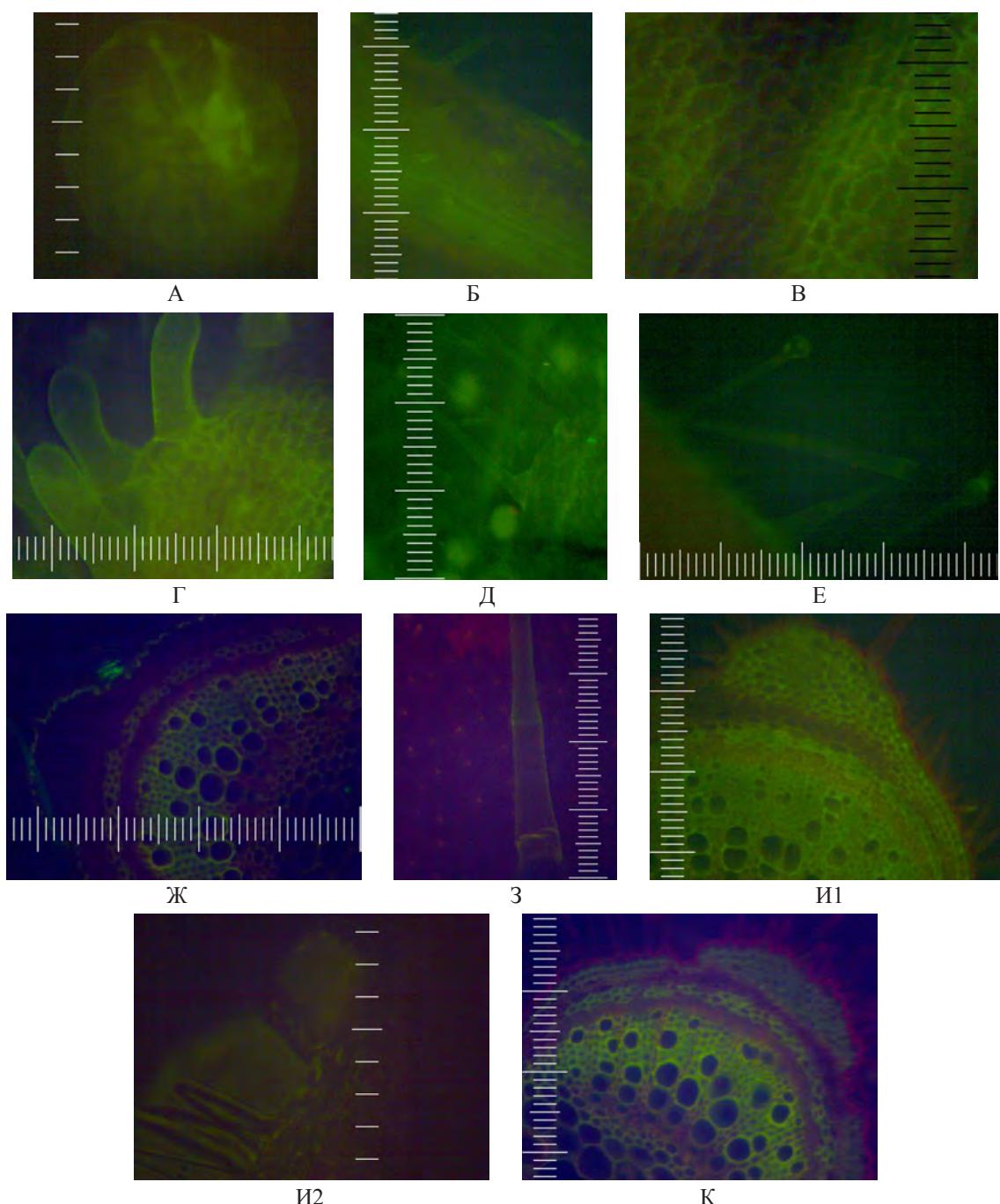
**Таблица 4 – Цветовые особенности флуоресценции неокрашенных и окрашенных тканей *Melissa officinalis* L. при различной УФ-идентификации**

Красители	Источник света	Цвет флуоресценции	Биологически активные вещества	Результат
Неокрашенные ткани	УФ-свет (UV –2А)	Ярко голубая-беловатая	Лигнин или фенолы	–
		От желтоватой до коричневатой	Конденсированные танины	+
		Ярко-зеленая	Липиды	+
Железа (Ш) хлорид	Green (G-2A)	Ярко-красный	Фенолы	+
AlCl <sub>3</sub>	УФ-свет(UV – 2А)	Красный	Полифенольные соединения	+
Ацетат свинца	УФ-свет(UV – 2А)	Голубой, зеленый	Флавоноиды	+
		Голубой	Флавоноиды	н.д.

Примечание: – отрицательная реакция; + положительная реакция; н.д. – не определялось

Окрашивание препарата поперечного среза стебля и поверхностного препарата листа раствором алюминия хлорида показало наличие зеленой флуоресценции в УФ-свете (UV – 2A) клеток колленхимы, эндодермы и ксилемы стебля и внутриклеточного содержимого простых конусовидных волосков II типа (рис. И1, И2), которая свидетельствует о присутствии веществ флавоноидной природы. Окраска поперечного среза стебля раствором железа (Ш) хлорида привела к появлению ярко-красной флуоресценции в УФ-свете (UV – 2A),

что говорит о локализации в клетках хлоренхимы, флоэмы и ксилемы полифенольных соединений (рис. 14К). Полученные результаты согласуются с литературными данными по вторичным метаболитам. Так, фенольные соединения (флавоноиды и фенолкарбоновые кислоты) были обнаружены в надземной части *M. officinalis* [10, 12, 15]. Кроме того, M. Chwil et al. обнаружили терпеновые соединения и полифенолы в обоих типах железистых трихом у *M. officinalis* гистохимическими методами [30].



**Рисунок 14 – Флуоресценция секреторных структур *Melissa officinalis* L.**

A – эфиромасличная железка листа, (ув.  $\times 40$ ), УФ-свет (UV – 2A); Б – эпидермис листа, простые конусовидные волоски, (ув.  $\times 10$ ), УФ-свет (UV – 2A); В – клетки эпидермиса венчика, (ув.  $\times 10$ ), УФ-свет (UV – 2A); Г – пальчатые простые волоски венчика, (ув.  $\times 10$ ), УФ-свет (UV – 2A); Д – простые многоклеточные волоски, головчатые волоски тип I (ув.  $\times 10$ ), УФ-свет (UV – 2A); Е – головчатые волоски с воронковидной головкой тип II (ув.  $\times 10$ ), УФ-свет (UV – 2A); Ж – поперечный срез стебля (ув.  $\times 10$ ), Green (G-2A); З – эпидермис листа (ув.  $\times 10$ ) Green (G-2A) И1 – поперечный срез стебля,  $AlCl_3$  (ув.  $\times 10$ ), УФ И2 – простые волоски,  $AlCl_3$  (ув.  $\times 40$ ), УФ; К – поперечный срез стебля,  $FeCl_3$  (ув.  $\times 10$ ), УФ

Использование реактива судан III при гистохимическом исследовании показало, что клеточные оболочки эпидермы, эфиромасличные железки, кроющие и головчатые трихомы листьев, чашечки, венчика и стебля, ткани стебля окрашивались в оранжево-желтый цвет, что говорит о наличии в них гидрофобных метаболитов. Эфирное масло и липиды идентифицированы в эфирно-масличных железках

и железистых волосках. Фенольные соединения обнаружены в колленхиме вокруг проводящих пучков листа, в клетках флюэмы и ксилемы. Алкалоиды в тканях и трихомах надземной части мелиссы гистохимически не обнаружены. Терпеновые соединения и полифенолы обнаружены в обоих типах железистых трихом и простых волосках *M. officinalis*.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** В результате проведенного ис-

следования надземной части мелиссы лекарственной сортообразца из коллекции НБС-ННЦ подтверждено наличие диагностически важных для данного вида морфологических и микроскопических признаков, установлено соответствие имеющемуся в литературе описанию данного вида сырья. Впервые проведен морфометрический анализ сырья, определены форма и размеры клеток эпидермиса листа, стебля, чашечки и венчика, характер и частота расположения эпидермальных трихом анализируемого сортообразца, что дополняет анатомическую характеристику надземной части *M. officinalis* L. Гистохимически впервые установлены присутствие и локализация в тканях и трихомах сырья липидов, полисахаридов, фенольных соединений, флавонOIDов, компонентов эфирного масла, терпеноидов. Таким образом, содержимое железок и железистых волосков богато

гидрофильными и гидрофобными соединениями, в меньшей степени – простые нежелезистые кроющие трихомы. Все трихомы осуществляют секрецию компонентов эфирного масла, что подтверждено гистохимическими тестами. Впервые выявлены анатомические структуры, принимающие участие в секреции тех или иных типов биологически активных веществ. Методом флуоресцентной микроскопии впервые проанализировано присутствие в трихомах и тканях травы мелиссы лекарственной липидов, хлорофилла, полисахаридов, флавонOIDов и фенольных соединений. Важно отметить доступность, простоту и ёмкость гистохимического метода анализа сырья, перспективность его использования при идентификации лекарственного растительного сырья и определения характера и локализации секреции биологически активных веществ.

**INTRODUCTION.** Ecological and geographical conditions of introduction of medicinal plants have a decisive influence on the chemical composition of biologically active substances of plants, as well as on the biological features of their development. The method of microscopic analysis is used to study the anatomical structure of the plant, establish the characteristic anatomical-diagnostic and morphometric characteristics. Chemical and physical-chemical research methods allow the identification of active and related substances in plants. Such methods include a histochemical analysis, which makes it possible to identify patterns of secretion of biologically active substances and to establish their presence and localization in the tissues and organs of the plants. In turn, such studies illustrate distinctive features of the metabolism of glandular trichomes and tissues of different chemotypes of a single plant species. In the Nikitsky Botanical Garden – National Science Center (NBG-NSC) of the Russian Academy of Sciences, Republic of Crimea, Yalta, in the laboratory of aromatic and medicinal plants, long-term biological and introduction studies of the development of different varieties of medicinal plants are traditionally held. *Melissa officinalis* L. is one of the species of the Lamiaceae family, introduced on the experimental plot of essential oil plants of the botanical garden [1, 2].

*Melissa officinalis* L. (the synonyms: *Faucibarba officinalis* (L.) Dulac., *Mutelia officinalis* (L.) Gren. ex Mutel, *Thymus melissa* E.H.L. Krause, Citronell, Common balm) is one of the 5 species of the *Melissa genus*, the Lamiaceae family. The plant is known by other names: lemon balm, bergamot mint, bee balm, beehouse. *M. officinalis* L. is widespread in Europe, Africa, North America, Iran, Ukraine, the Caucasus and Central Asia. This plant is cultivated as a medicinal and essential oil plant in the UK, Serbia, Algeria, Mediterranean countries, the Caucasus, Krasnodar region, Samara region, Crimea [3–5].

The herb of *Melissa officinalis* L. is characterized by a high content of phenylpropanoids (rosmarinic, caffeic, chlorogenic acid, p-coumaric, ferulic and sinapic acids), flavonoids (luteolin, tsinarozid, apigenin, kosmosiin),

phenol carbonic acids (syringic, gentisic, salicylic, vanillic, p-hydroxybenzoic, protocatech), condensed tannins [6, 7]. According to foreign researchers, oleanolic and ursolic acids are identified in the herb of melissa. [8]. Monoterpenes (citral) prevail in the essential oil [9].

The aerial part of *Melissa officinalis* L. is used in ethnomedicine of European countries. In France, Italy, Austria, Germany and Bulgaria, lemon balm is used for trophic ulcers as a wound-healing agent, for skin rashes, furuncles on the skin, for rinsing in inflammation of the gum tissue; externally for massage and rubbing, for poultices and compresses; in manufacturing of cosmetics [4, 10, 11]. The official raw material is the aerial part and leaves of melissa in Europe, and the plant is included in the European Pharmacopoeia, the British Herbal Pharmacopoeia, in the Iranian Herbal Pharmacopoeia. In Russia, this type of raw materials has become official since 1996, now the project of the pharmacopoeial item “Melissy lekarstvennoy travy” (Eng.: “The herb of *Melissa officinalis* L.”) has been worked out (instead of FA 42-3645-98) (Project materials on General monographs and pharmacopoeial items <https://www.rosminzdrav.ru/61/11/materially-po-farmakopee>) [12]. Pharmacological studies show that medicines based on the melissa herb exhibit mild hypnotic effects, have a sedative, antispasmodic effect on the central nervous system [13–16]. Increased appetite and stimulation of gastric juice secretion, increased gastric motor activity, the manifestation of choleric and carminative action of medicines based on melissa herb are the factors characteristic for the medicines based on the melissa herb [4, 17]. Besides, it has hypoglycemic, astringent properties and stimulates menstruation [18]. The plant aldehydes (citral, citronelal) have antimicrobial activity against a number of pathogenic fungi and tuberculosis Mycobacteria (K. Okazaki and S. Oshima, 1953). Rosmarinic acid causes antiviral activity against herpes viruses, influenza; it has antiallergic and antioxidant effects based on anti-complementary and anti-radical properties of melissa [19].

**THE AIM.** Is to determine microdiagnostic signs and biometric characteristics of the *Melissa officinalis*

L. variety sample from the collection of the Nikitsky Botanical Garden, to study the possibility of using histochemical reactions for the analysis of tissues and secretory structures of the studied species in determining the authenticity of raw materials and the identification of biologically active substances due to the lack of literature data of general histochemical research.

**MATERIALS AND METHODS.** The plant object



of the study was the aerial part of *Melissa officinalis* L., introduced on the experimental plot of NBG-NSC. For several years, the researches of a biological specific character of vegetation of this selection variety sample have been carried out by Logvinenko Lidiya Alekseevna, a senior researcher of the Nikitsky Botanical Garden, in ecological and geographical conditions of the southern coast of Crimea (Fig. 1).



**Figure 1 – External appearance of *Melissa officinalis* L. variety sample from the collection of NBG-NSC, Republic of Crimea, Yalta**

The analyzed raw materials harvested during the flowering period in July 2016 is a mixture of stems (up to 35 cm), leaves and flowers. Drying of raw materials was carried out at 25–30°C, avoiding exposure to direct sunlight, for 7 days. The umidity of the melissa dry raw materials after drying was 8,79±0,36%. The analysis of microscopic signs of raw materials, morphometric and histochemical studies were carried out according to the methods of State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIII (General pharmacopoeia article.1.5.3.0003.15 «Tekhnika mikroskopicheskogo i mikrohimicheskogo issledovaniya lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya i lekarstvennyh rastitel'nyh preparatov», General pharmacopoeia article.1.5.1.0002.15 «Travy» [20, 21]) using a microscope «Mikromed-1» and a fluorescent microscope «Mikromed 3 LUM» with eyepiece 10×, lens 4×, 10×, 40× and Digital Eyepiece microscope camera MD 3.2 (3.2 megapixels). Histochemical reactions to the presence and localization of biologically active components in tissues, simple and capitate trichomes were carried out using the following reagent solutions: sudan III (lipids, essential oils, cutin, suberin); methylene blue (essential oils); 10% thymol solution and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (polysaccharide, amylose, inulin), concentrated hydrochloric or sulfuric acid (sesquiterpene lactone); ferric chloride (III) и potassium dichromate (phenolic compounds); magnesium acetate and lead neutral acetate (flavonoids, fluorescence under UV light), aluminium trichloride (flavonoids, blue fluorescence under UV light); vanillin-HCl (flavonoids), Wagner's reagent (alkaloids), phloroglucinol with concentrated hydrochloric acid (lignin), 2,4-dinitrophenylhydrazine (terpenoids) [22–31]. The photos were edited

in the program Paint.NET 3.5.11, combining the photos of the object-micrometer (microlinear scale division value of 0.01 mm or 10 mcm) and the photos of the object of research with each working magnification of the microscope lens and the resolution of the digital camera used. The sample consisted of 10 measurements, the statistical processing was carried out in the program Microsoft Excel (Microsoft, USA). The detected external and microscopic signs of the studied raw materials were compared with the literature data [11, 12].

**RESULTS AND DISCUSSION.** The study of morphological features of the aerial part of *M. officinalis* showed that the leaves of this variety sample from the top side are green, from the bottom side they are light green, short-petiolate, ovoid, opposite with a crenellated edge, pinnate venation and an acuminate tip. The leaf blade is pubescent on the upper side of the veins, the underside is fully pubescent; its length is up to 3.2 cm, the width is up to 2.5 cm. The stems are tetrahedral gray-green, with longitudinal grooves, the pubescence is weakly pronounced in upper and middle parts; at the bottom the stems are bare.

At the fracture, the stem is white and green, with a cavity inside at the bottom. The flowers are small (calyx 5–7 mm, corolla 7–9 mm long), collected in the axils of the upper leaves in false whorls, and form an inflorescence of the thirs type 5–10 cm long in the upper part of the stem. The corolla is bilabiate, pubescent, white or white-pink.

The calyx is pubescent, funnel-shaped with five pointed teeth (Fig. 2). The raw material has a lemon smell, increasing with rubbing. The taste of the water extract is bitterish.

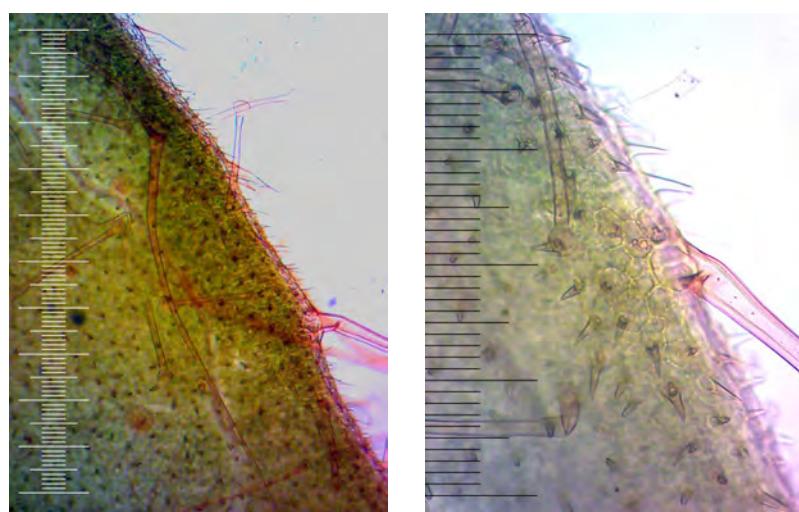


**Figure 2 – External appearance of *Melissa officinalis* L. variety sample (stems, leaves, flowers) from the collection of NBG-NSC, Republic of Crimea, Yalta**

1 – whole raw materials; 2, 3, 4 – raw materials cut, 5 – herb powder

Microscopic studies were carried out on temporary microscopic preparations made from dried raw materials according to the generally accepted methods [20]. Microscopy of the temporary microscopic preparations showed, that the plant tissues, containing essential oil (glands and trichomes), are pigmented. The adaxial side of the leaf blade is covered with a cuticle layer. The epi-

dermis of the adaxial and abaxial sides of the leaf consists of a single layer of cells. When examining the microscopic preparations of the leaf edge, a large number of simple unicellular conical, nonbranching hairs (II type), 20–50  $\mu\text{m}$  long (Fig. 3) were noted, their base is characterized by the formation of cuticle folds. This type of simple trichomes covers both the adaxial and abaxial sides of the leaf.



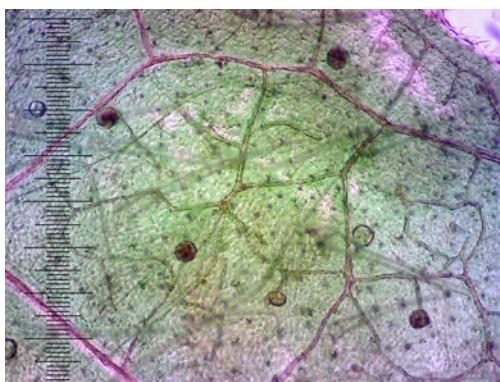
**Figure 3 – Microscopic preparation of the leaf edge of *Melissa officinalis* L. (mag. 4 $\times$ , 10 $\times$ )**

The upper epidermis cells of the leaf of various forms with winding walls are without thickening, the lower epidermis cells have more sinuous walls.

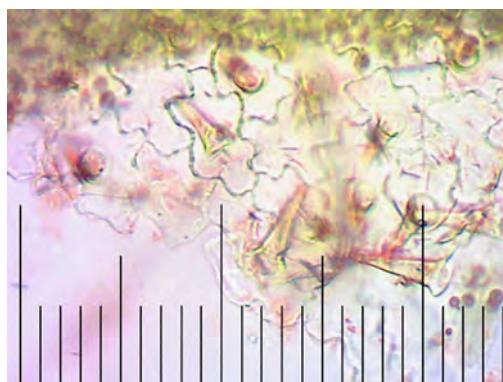
On the underside of the leaf there are stomata, a stomatic apparatus of a diacytic type. Multicellular

conical hairs are characteristic for the lower epidermis, consisting of 2–4 cells with thickened walls (Type I) and capitate hairs of two types: with a multicellular leg and a funnel-shaped head (Type I) and with a short single-celled leg and a spherical head (Type II). The

essential oil glands of radial type are not immersed in mesophyll, they consist of a short single-celled leg and a spherical head with eight excretory cells. At the sites



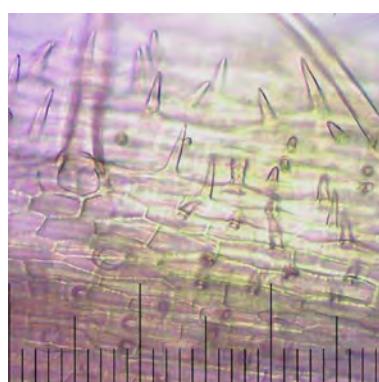
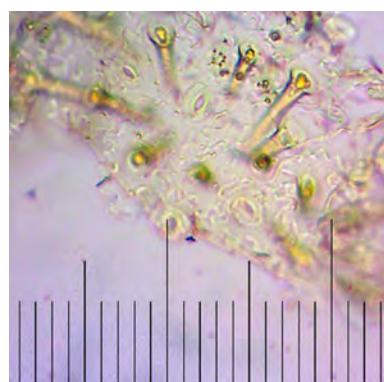
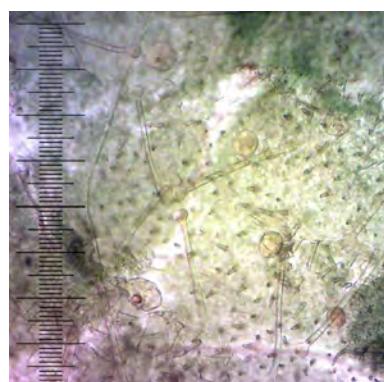
of the attachment of essential oil glands, the epidermal cells form a rosette from 5–6 cells of the epidermis (Fig. 4, 5).



**Figure 4 – Microscopic preparation of adaxial epidermis of *Melissa officinalis* L. leaf blade (mag. 4×, 10×)**

Secretory trichomes have a more thickened cuticular covering, than the epidermis, and are located predominantly on the abaxial side of the leaf and along the main vein. Experimental studies have shown, that on 1 mm<sup>2</sup>

of the abaxial side of the leaf blade there are 200–400 stomata, up to 80–100 simple unicellular conical, non-branching hairs, 10–12 essential oil glands at the distance of 100–150  $\mu\text{m}$  from each other.



**Figure 5 – Microscopic preparation of the abaxial epidermis of the *Melissa officinalis* L. leaf blade (mag. 4×, 10×)**

Calyx epidermal cells are different in shape, characterized by winding walls without thickening, at the base of the calyx and along the edge there is a folded cuticle, a stomatic apparatus is of diacytic type, the stomata are rare or absent (Fig. 6). Fig. 6 shows the conical unicellu-

lar hairs of the calyx, multicellular conical hairs, consisting of 2–4 cells with thickened walls, essential oil glands radial, capitate hairs with one basal cell (Type II). At the bottom of the calyx there are vascular bundles, surrounded by porous thick-walled lignified sclerenchymal fibers.

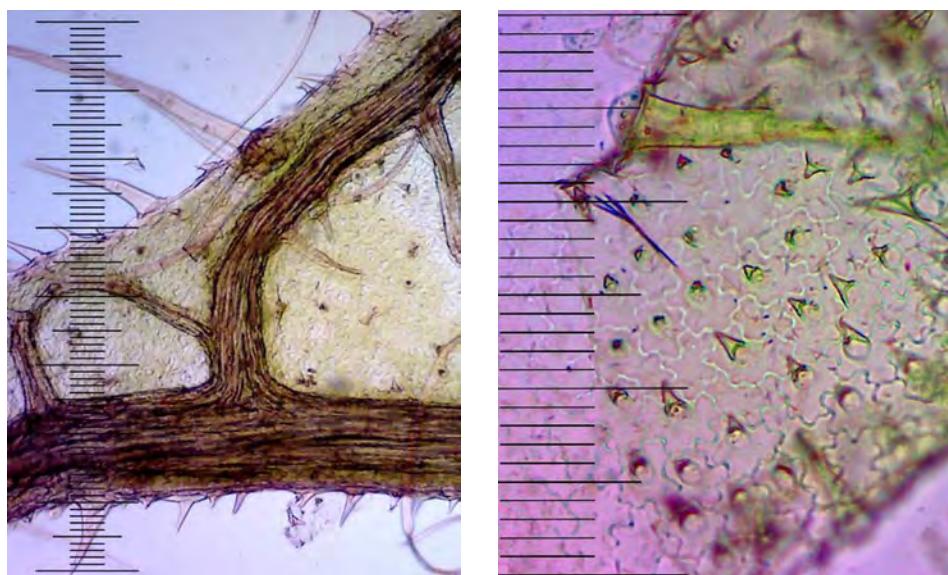


Figure 6 – Microscopic preparation of epidermis of the *Melissa officinalis* L. calyx (mag. 4×, 10×)

The cells of the outer corolla epidermis are of a rectangular shape, are characterized by winding walls with thickening, at the base and on the edge there is a folded cuticle, the char-

acteristic stomata are few. The cells of the inner corolla epidermis are polygonal, sinuous-walled. The corolla base cells are rectangular, with sinuous anticlinal walls (Fig. 7).

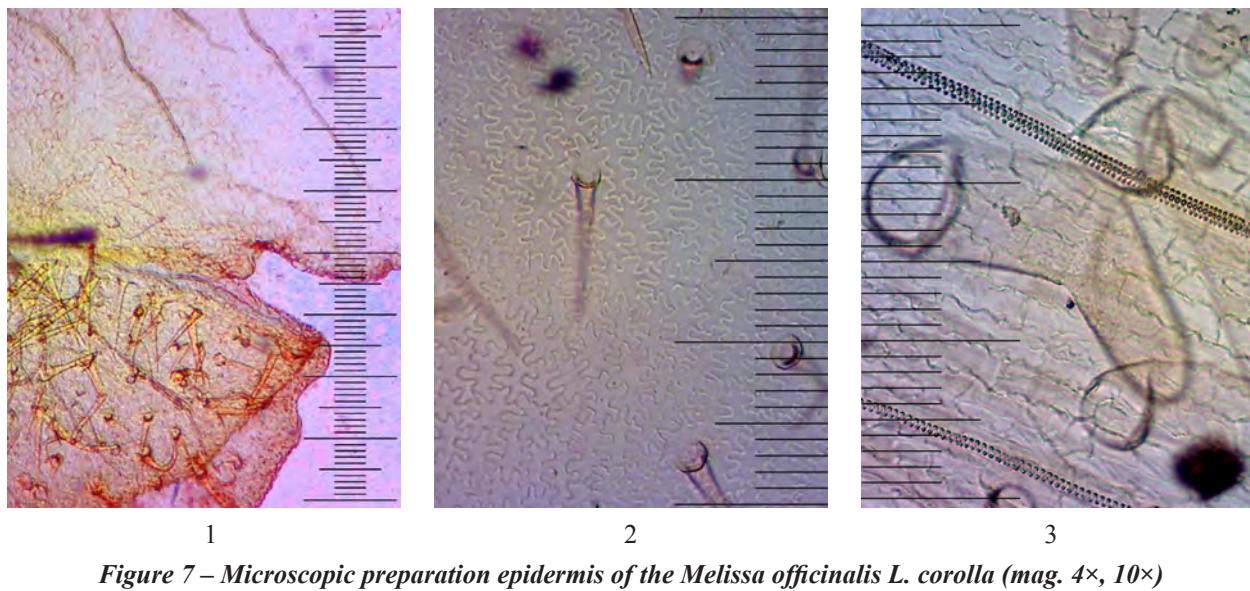
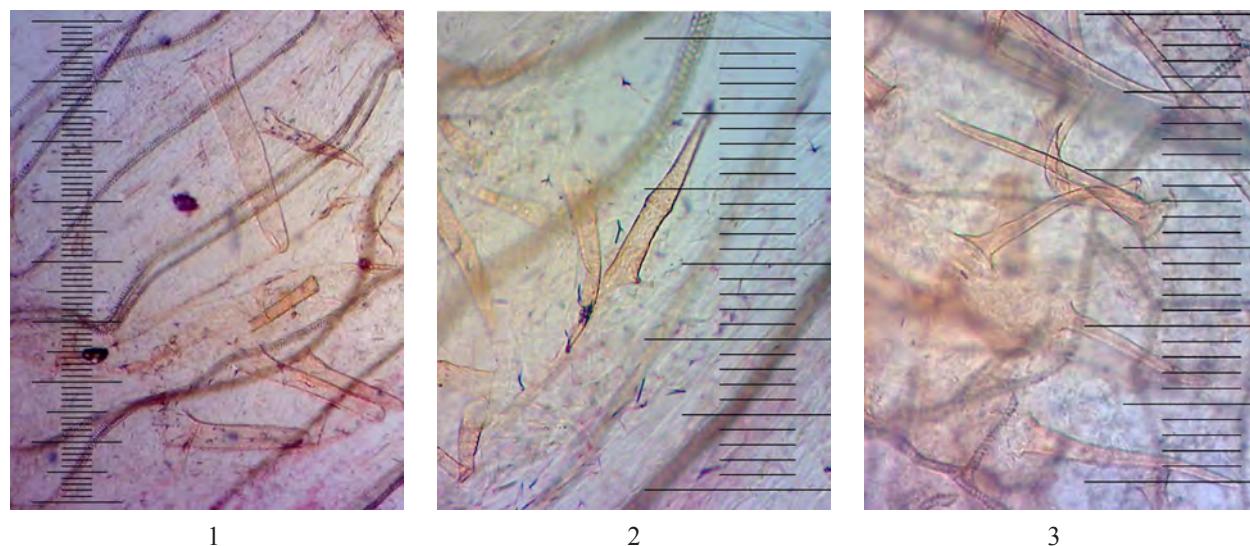


Figure 7 – Microscopic preparation epidermis of the *Melissa officinalis* L. corolla (mag. 4×, 10×)

1 – preparation from the surface of the corolla edge; 2 – cells of the outer corolla epidermis;  
3 – cells of the base of the corolla with fingerlike hairs

On the both sides, the corolla epidermis is covered with a large number of long, simple, multicellular hairs with a pimpled cuticle and simple unicellular conical

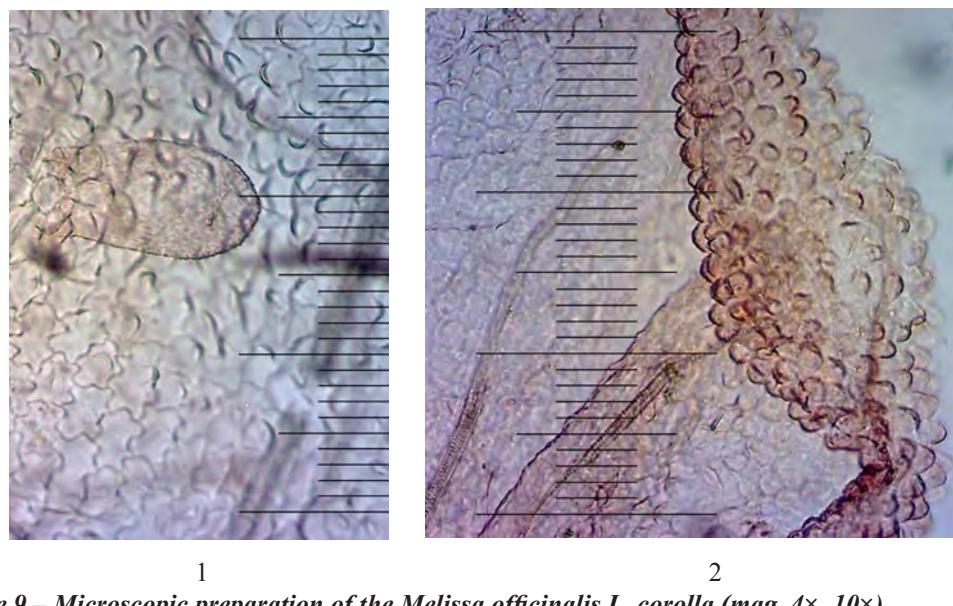
hairs. Essential oil glands and capitate hairs are present on the inner side of the corolla. Fingerlike hairs with a pimpled cuticle are characteristic for the corolla (Fig. 8).



**Figure 8 – Trichomes of the epidermis of the *Melissa officinalis* L. corolla (mag. 4× 10)**  
 1 – fingerlike hairs of the corolla edge; 2 – simple multicellular hairs with a pimpled cuticle;  
 3 – simple unicellular conical, nonbranching hairs

Corolla edge epidermis cells are polygonal with weakly sinuous walls with thickenings, tiled,

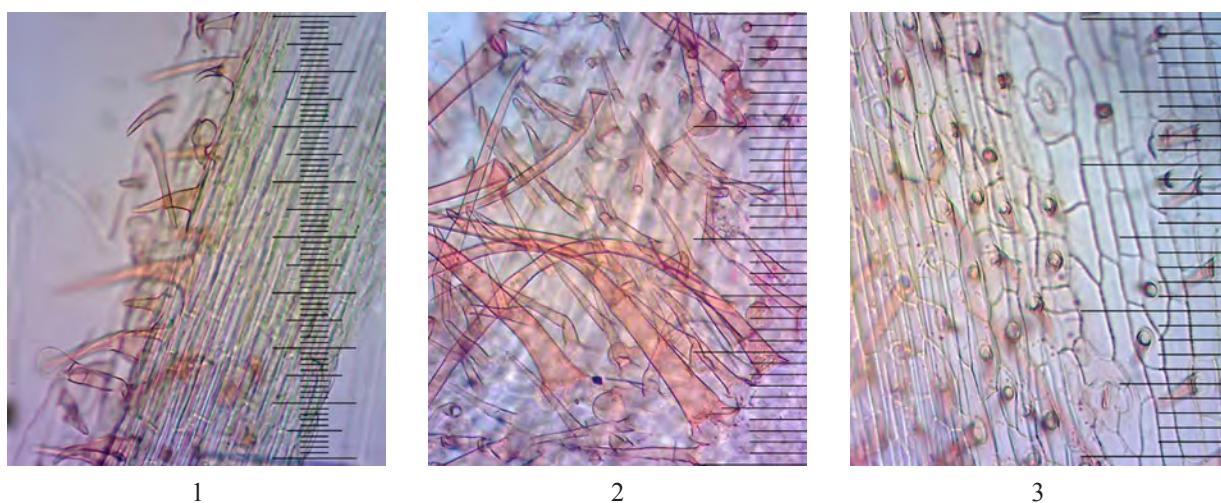
there are fingerlike hairs with a pimpled cuticle (Fig. 9).



**Figure 9 – Microscopic preparation of the *Melissa officinalis* L. corolla (mag. 4×, 10×)**  
 1 – cells of the upper part of the corolla epidermis and fingerlike hairs with a pimpled cuticle;  
 2 – corolla edge epidermis cells

The stem epidermis is represented by small polygonal elongated cells with straight walls. The stomatic apparatus is diacytic, the stomatic cleft is oriented along the stem. Numerous simple and glandular trichomes, located mainly on the ribs of the stem have been diag-

nosed. A lot of simple, large multicellular hairs (Type I) with a smooth cuticle and unicellular conical hairs (Type II) are present. In the upper part of the stem there are capitate hairs of Type II and rare essential oil glands (Fig. 10).

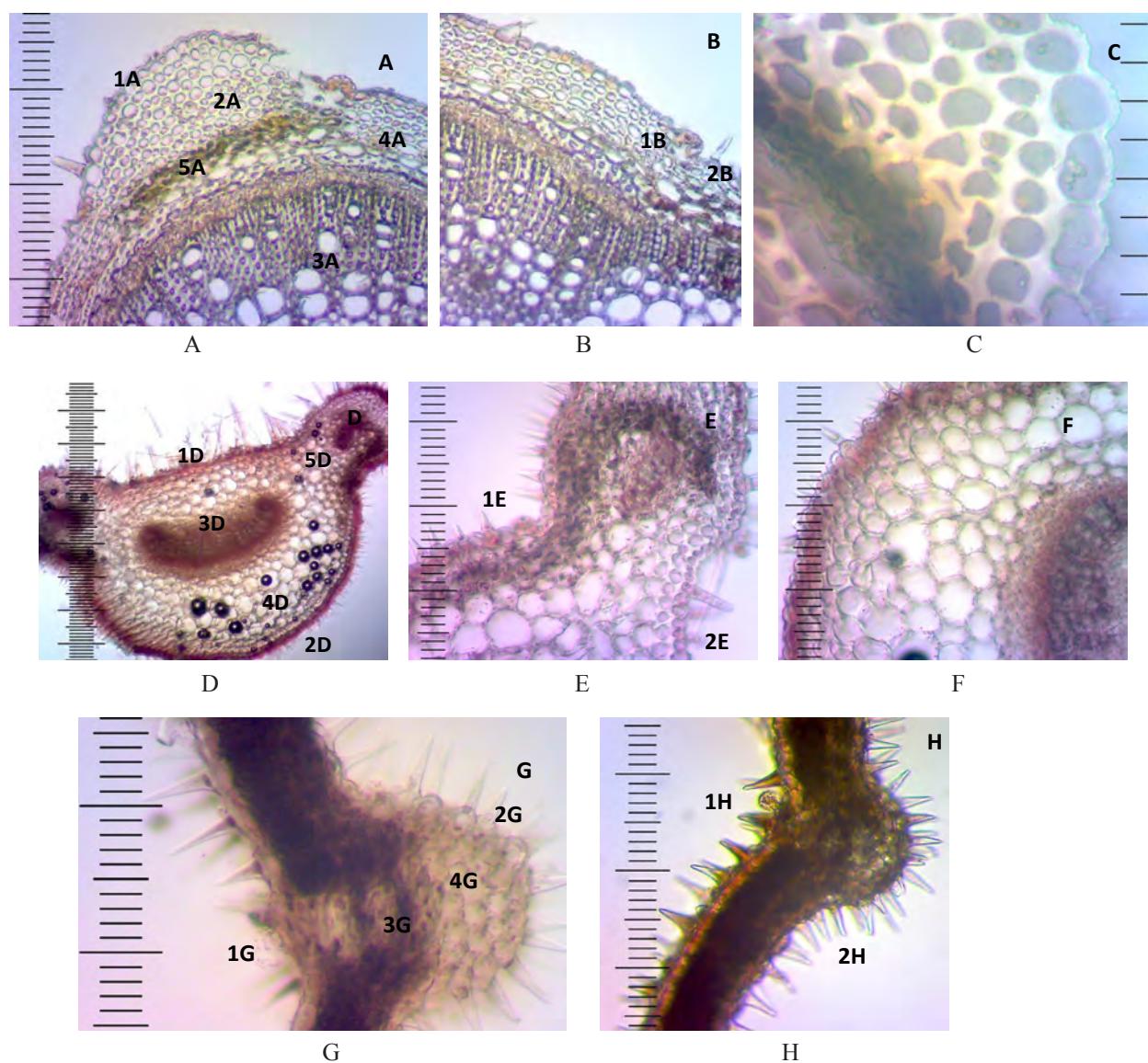


**Figure 10 – Microscopic preparation of the *Melissa officinalis* L. stem (mag. 4×, 10×)**

1 – preparation from the surface; 2 – trichomes of the stem epidermis;  
3 – cells and stomatic apparatus of the stem epidermis

The stem cross section is quadrangular. The epidermis is covered with a thin cuticle. The epidermis cells are oval, square or rectangular arranged in a single layer. Under the epidermis in the ribs of the stem there are 4–8 layers of cells of the angular collenchyma, locally there are 2–3 layers of chlorenchyma cells. Endoderm cells are oval, arranged in a single layer, containing starch grains. The cortex consists of 4–10 layers of parenchymal cells shaped irregularly oval or rectangular, with an intercellular space; the cells of the pericyclic sclerenchyma are partially represented. Bast fibers of phloem, cambium cells, vessels and xylem tracheids do not form conductive bundles. Cambium consists of 1–2 layers of cells, not clearly expressed. The stem cells are represented by a functioning parenchyma; they are large polygonal or round, centrifugally decreasing in size (Fig. 11). The cross section of the leaf blade shows that the upper and lower epidermis is covered with a thin layer of a cuticle. The thickness of both epidermis cuticles is almost equal. A large number of simple conical hairs are located on the upper and lower sides

of the epidermis, there are more glandular hairs on the abaxial epidermis, especially along the veins. The epidermis cells are arranged in a single layer, shaped oval, round or rectangular. The cells of the upper epidermis are larger than those of the lower epidermis or almost equal to them. The leaf mesophyll consists of one layer of elongated rectangular cells of the palisade parenchyma and 2–4 layers of isodiametric spongy parenchyma cells with large intercellular spaces. The results of cell measurements are shown in Table 1 (Fig. 11). The cross section of the petiole shows that the adaxial surface is concave and the abaxial surface is convex. On both sides there are simple and glandular trichomes. The epidermis consists of 1–2 layers of oval, round or rectangular cells. The parenchyma cells are large hexagonal or round, reaching 30 mcm in diameter. In the center there is a large arcuate collateral conducting bundle, there are two small collateral bundles in the wings of the stem. On the adaxial surface in the wings of the petiole there is a collenchyme of 2–3 layers of cells and 1–2 layers of chlorenchyma cells locally (Fig. 11).



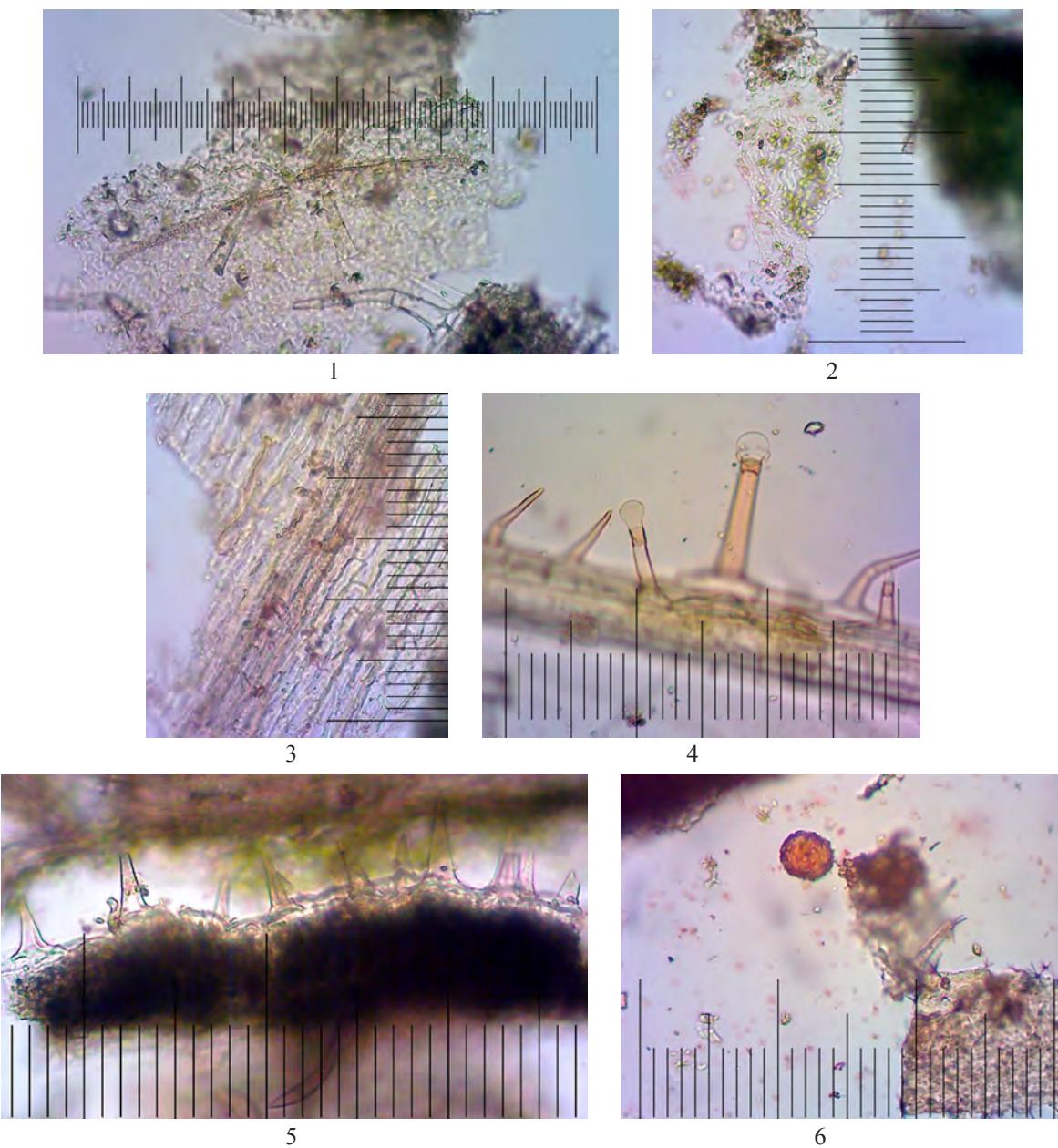
**Figure 11 – Microscopic preparations of the *Melissa officinalis* L. cross sections of the stem, petiole and leaf**  
 A, B (mag. ×10), C (mag. ×40) – stem cross section: 1A – epidermis; 2A – collenchyma; 3A – conductive vessel; 4A – the parenchyma of the cortex; 5A – chlorenchyma. 1B – stomatic apparatus; 2B – simple hair. D (mag. ×4),

E, F (mag. ×10) – cross section of the stem: 1D – adaxial epidermis, 2D – abaxial epidermis, 3D – central conducting bundle, 4D – parenchyma, 5D – lateral additional conductive vessel, 1E – simple unicellular conical, nonbranching hairs, 2E – capitate hairs. G, H (mag. ×10) – leaf cross section: 1G – adaxial epidermis, 2G – abaxial epidermis, 3G – conductive vessel, 4G – parenchyma; 1H – capitate hairs, 2H – simple hairs

Scale division = 10 mcm

In the preparations of the melissa herb powder, the scraps of leaf, stem, corolla and calyx epidermis with characteristic trichomes, pollen grains have been identi-

fied. The pollen grains are spherical with slightly warty exine and pores (Fig. 12).



**Figure 12 – Microscopic preparation of the *Melissa officinalis* L. herb powder (mag. 4×, 10×)**  
 1 – fragment of leaf epidermis; 2 – fragment of calyx epidermis; 3 – fragment of stem epidermis; 4 – secretory trichomes; 5 – simple unicellular conical hairs; 6 – pollen grains. Scale division = 10 mcm

Tables 1 and 2 show the results of the experimental studies of the biometric characteristics of the main microscopic signs of the aerial part of *M. officinalis* L. se-

lection variety sample in NBG-NSC and the location of trichomes on the aerial organs of the plant.

**Table 1 – Quantitative and anatomical parameters of the herb of *Melissa officinalis* L. selection variety sample in NBG-NSC**

Microscopic structure	Dimension, mcm	
	Length, mcm	Width, mcm
Cells of the upper leaf epidermis	60–70	50–60
Cells of the lower leaf epidermis	40–50	30–40
Calyx epidermis cells	50–60	30–40
Corolla epidermis cells	60–70	20–40
Stem epidermis cells	50–60	10–20
Length of simple multicellular hairs (Type I)	100–400	
Length of capitate hairs 1. Type I 2. Type II	1 – 30–50, 2 – 60–300	

Microscopic structure	Dimension, mcm	
	Length, mcm	Width, mcm
Length of simple unicellular conical hairs (Type II)	20–50	
Length of fingerlike hairs of corolla epidermis (Type III)	100–250	
The number of essential oil glands per 1 mm <sup>2</sup> , pcs.	10–12	
Diameter of the glands	40–80	
Diameter of the stomatic apparatus, mcm	20	
The number of stomatic apparatus per 1 mm <sup>2</sup> of the lower epidermis, pcs.	200–400	
Leaf blade thickness, mcm	50–70	
Adaxial epidermis thickness, mcm	7–10	
Abaxial epidermis thickness, mcm	10–15	

**Table 2 – Distribution of glandular hairs, glands, simple hairs and epidermis outgrowth on the aerial part of the *Melissa officinalis L.* selection variety sample in NBG-NSC**

Part of the plant	Glandular hairs, Type I/II	Glands	Simple hairs, Type I/II
Stem	+	+	++
Adaxial leaf blade	–	+	++
Abaxial leaf blade	+++	+++	+++
Petiole	+	–	+++
Calyx	+	+	++
Corolla	+	–	++

Notation: (–) trichomes are absent, (+); not many trichomes, (++, +++) a lot of trichomes

The use of histochemical tests showed a characteristic staining of tissues and trichomes, which is the result of the interaction of the reagents with the detected components and

leads to their specific binding [22–31]. The results of the detection of secondary metabolites in trichomes and tissues of the *Melissa officinalis L.* aerial part are presented in Table 3.

**Table 3 – Histochemistry of tissues and glandular trichomes of the *Melissa officinalis L.* aerial part**

Defined component	Reagent	Coloring	Trichome type		
			simple	glandular	gland
Lipids, suberin, cutin	Sudan III	Red	+(Fig. 13A)	+(Fig. 13B, B1)	+(Fig. 13C)
Essential oil	Sudan III	Orange red	–	+(Fig. 13B, B1)	+(Fig. 13C)
Essential oil	Methylene blue	Blue	–	+(Fig. 13EF)	+(Fig. 13G)
Terpenoids	2,4-Dinitrophenyl-hydrazine	Black and blue	+(Fig. 13M)	+(Fig. 13N)	+(Fig. 13O)
Sesquiterpenes	c. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Yellow	–	–	–
Flavonoids	Vanillin, HCl c.	Yellow Red	+(Fig. 13H)	–	+(Fig. 13I)
Flavonoids	Magnesium acetate	Yellow	+(Fig. 13P)	+(Fig. 13P)	–
Phenolic compounds	10% Potassium dichromat	Yellow	+(Fig. 13S)	+(Fig. 13Q)	+(Fig. 13R)
Phenolic compounds	Ferric chloride (III)	Brown, green and black	+(Fig. 13K)	+(Fig. 13J)	–
Alkaloids	Wagner's reagent	Black	–	–	–
Lignin	Phloroglucinol, HCl c.	Red purple	–	–	–
Polysaccharide (inulin)	10% thymol H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> c.	Orange red	+(Fig. 13UV)	–	–

Notation: – negative reaction; + positive reaction

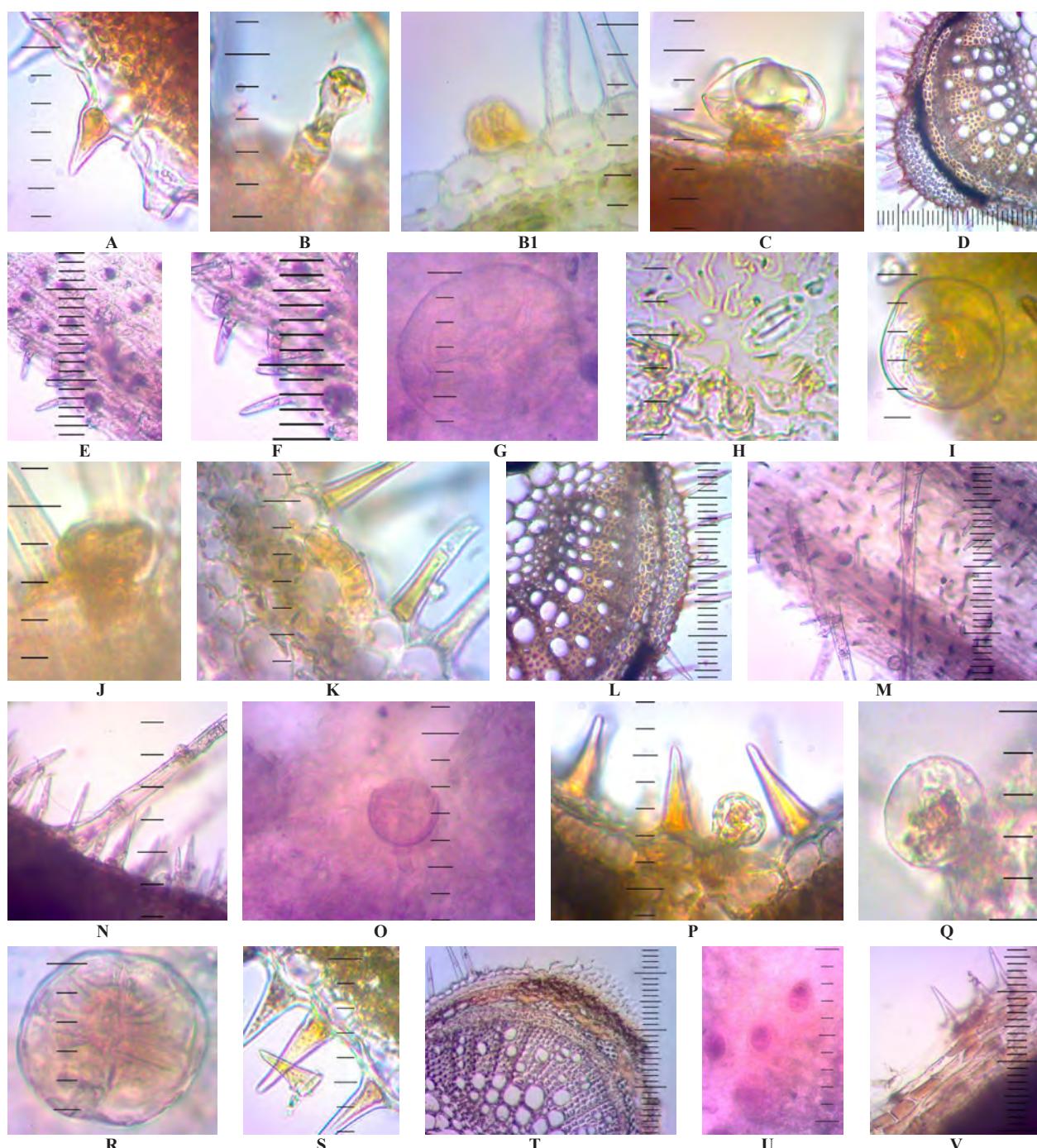
Several methods of staining were used for histochemical analysis of the secreting material. To confirm the presence of hydrophobic metabolites of lipids and essential oil, the preparations were stained with Sudan III. The cuticle of the stem epidermis, the cuticle of the pedicel and the intracellular contents of the head of the

glandular hairs, the cuticle of simple hairs, as well as the intracellular contents of the essential oil glands were detected as painted orange-pink (Fig. 13A–D).

A solution of methylene blue in ethanol was used to identify essential oils [22, 24]. The micropreparation of the leaf was stained with a solution of methylene blue

and observed: the contents of the essential oil glands and glandular hairs were getting blue (Fig. 13 E, F, G). The

obtained result indicates the presence of essential oil in these structures.



**Figure 13 – The results of histochemical reaction**

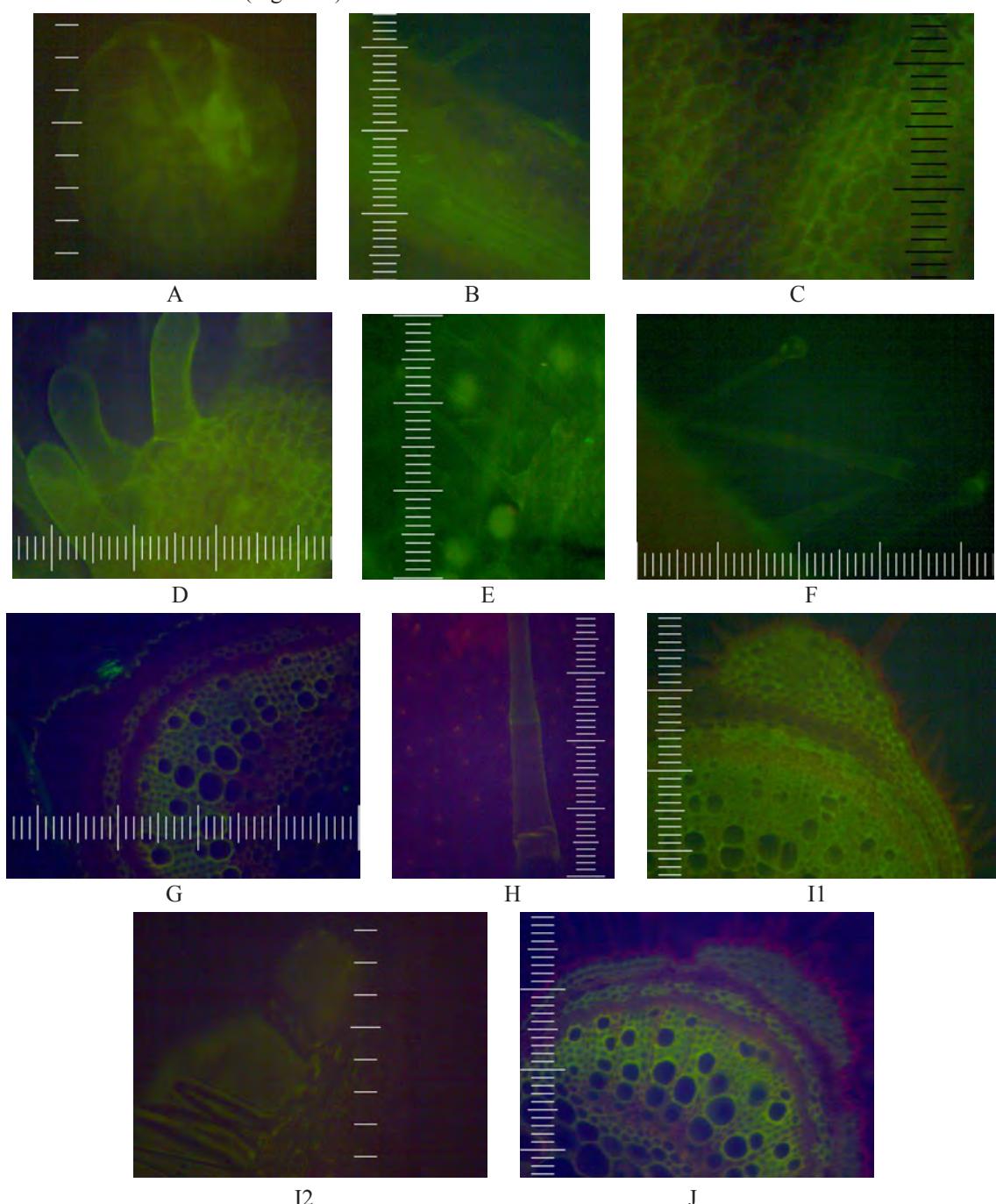
with Sudan III: A–C trichomes (mag.  $\times 40$ ); D – cross section of the stem (mag.  $\times 10$ ); with methylene blue: E, F (mag.  $\times 10$ ), G (mag.  $\times 40$ ) – trichomes; with vanillin and HCl c.: H, I – epidermis of the stem, essential oil glands (mag.  $\times 40$ ); with ferric chloride (III): J, K – trichomes (mag.  $\times 40$ ), L – cross section of the stem (mag.  $\times 10$ ); with 2,4-dinitrophenylhydrazine: M – trichomes (mag.  $\times 10$ ), N, O (mag.  $\times 40$ ); with magnesium acetate: P – trichomes (mag.  $\times 40$ ); with potassium dichromat: Q, R, S – trichomes (mag.  $\times 40$ ); with phloroglucinol with HCl c.: T – cross section of the stem (mag.  $\times 10$ ); with 10% thymol and  $H_2SO_4$  c.: U – trichomes (mag.  $\times 40$ ), V (mag.  $\times 10$ )

Processing of the leaf microscopic preparations with concentrated sulfuric acid showed that the trichomes and leaf tissues do not get stained yellow-orange, which implies the absence of sesquiterpenes, triterpenes and steroid compounds in the raw material under study. Cross sections of the stem and leaf were stained with a 1% solution of ferric chloride (III). Black and green staining was observed

over the entire surface of the preparations, which also indicates the presence of phenolic compounds (Fig. 13 J, K, L). When adding a solution of vanillin and HCl c., flavonoid secreting tissues turn yellow (Fig. 13 H, I). Wagner's reagent for the detection of alkaloids did not give an analytical effect. The plant material was placed in a 10% alcohol solution of potassium dichromat for 7 days, after that it

was microscoped. Phenolic compounds were detected by trichome cell staining (Fig. 13 Q, R, S). To establish the presence of terpenoids, reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine was carried out (Fig. 13 M, N, O); hereby, the cell walls of simple trichomes and the contents of the glands turned black and blue. When treated with a magnesium acetate solution, the cell contents of the simple and capitate trichomes turned yellow-orange which demonstrates the accumulation of flavonoids (Fig. 13 P).

The presence of lignin was determined by the reaction with phloroglucinol and concentrated hydrochloric acid, and the pink-orange color of the pericyclic sclerenchyma cells was observed on the stem cross section (Fig. 13 T). The result of the histochemical reaction with a 10% solution of thymol and  $H_2SO_4$  c. showed the presence of polysaccharide in the stem epidermis cells (Fig. 13 U,V) and in the cellular contents of simple conical, hairs.



**Figure 14 – Fluorescence of *Melissa officinalis* L. secretory structures**

A – essential oil glands of the leaf (mag.  $\times 40$ ), UV light (UV – 2A); B – epidermis of the leaf, simple unicellular conical hairs (mag.  $\times 10$ ), UV light (UV – 2A); C – corolla epidermis cells (mag.  $\times 10$ ), UV light (UV – 2A); D – fingerlike hairs of the corolla (mag.  $\times 10$ ), UV light (UV – 2A); E – simple multicellular hairs, capitate hairs type I (mag.  $\times 10$ ), UV light (UV – 2A); F – capitate hairs with a multicellular leg and a funnel-shaped head type II (mag.  $\times 10$ ), UV light (UV – 2A); G – cross section of the stem (mag.  $\times 10$ ), Green (G-2A); H – leaf epidermis (mag.  $\times 10$ ) Green (G-2A) II – stem cross section,  $AlCl_3$ , (mag.  $\times 10$ ), UV I2 – simple conical hairs,  $AlCl_3$ , (mag.  $\times 40$ ), UV; J – stem cross section,  $FeCl_3$ , (mag.  $\times 10$ ), UV

Table 4 shows the results of microscopic examination of the tissues and trichomes of *Melissa officinalis* L. with different UV identification. Trichomes and cuticle, emitting bright green autofluorescence in UV light, demonstrate the presence of hydrophobic substances of suberin and cutin (Fig. 14 A–F) [30, 31]. In glandular trichomes, bright yellow autofluorescence of lipophilic and hydrophilic intracellular contents was observed, the leaf mesophyll glowed with yellowish-green light. Weak yellow autofluorescence was observed in the intracellu-

lar contents of the glandular head, glandular trichomes of both types and the cuticle of simple hairs (Fig. 14 A, B, E), which indicated the presence of phenolic compounds.

Bright red autofluorescence in UV light is observed in leaf mesophyll cells, which may be due to the presence of chlorophyll (Fig. 14 B, F). On the stem cross-section in UV light (light filter Green (G-2A)) endoderm cells, phloem and stem parenchyma were getting a red glow due to the presence of phenolic substances (Fig. G, H).

**Table 4 – Fluorescence color features of unpainted and painted plant tissue of *Melissa officinalis* L. with different UV-identification**

Reagent	Light source	Fluorescence color	Biologically active substances	Result
Unpainted tissues	UV light (UV-2A)	Bright blue-whitish	Lignin or phenols	–
		Yellowish to brownish	Condensed tannins	+
		Bright green	Lipids	+
Ferric chloride (III)	UV light (UV-2A)	Bright red	Phenols	+
AlCl <sub>3</sub>	UV light (UV-2A)	Blue, green	Flavonoids	+
Lead acetate	UV light (UV-2A)	Blue	Flavonoids	N.d.

Notation: – negative reaction; + positive reaction; n.d. – not detected

Staining the preparation of the stem cross-section and the surface preparation of the leaf with AlCl<sub>3</sub> showed the presence of green fluorescence in the cells of collenchyma, endoderm and xylem of the stem and intracellular contents of simple conical hairs of Type II in UV light (UV-2A) (Fig. 11, 12), which indicated the presence of flavonoid substances. Coloring the stem cross section with ferric chloride (III) showed bright red fluorescence in UV light (UV-2A), which indicated the localization of polyphenolic compounds in the cells of chlorenchyma, phloem and xylem (Fig. 14J). The results obtained are consistent with the literature data on secondary metabolites. Thus, phenolic compounds (flavonoids and phenol carboxylic acids) were found in the aerial part of *M. officinalis* L. [10, 12, 15]. In addition, M. Chwil et al. discovered terpene compounds and polyphenols in both types of trichomes in *M. officinalis* L. by histochemical methods [30].

Histochemical reagent Sudan III showed that the cell walls of the epidermis, the essential oil glands, covering and capitate trichomes of the leaves, calyx, corolla and stem, stem tissue turned orange-yellow, which indicates the presence of hydrophobic metabolites in them, the essential oil and lipids are identified in the essential oil glands and glandular hairs. Phenolic compounds are found in the collenchyme around the conductive leaf bundles, in the cells of the phloem and xylem. Alkaloids in the tissues and trichomes of the aerial part of melissa have not been detected histochemically. Terpene compounds and polyphenols are found in both types of glandular trichomes and simple hairs of *M. officinalis*.

**CONCLUSION.** As a result of the study conducted, the aerial part of the *M. officinalis* selection variety sam-

ple from the NBG-NSC collection confirmed the presence of morphological and microscopic signs that are diagnostically important for this type, and have been found to be consistent with the literature description of this type of raw materials. For the first time, a morphometric analysis of the raw materials has been carried out, the shape and size of epidermal cells of the leaf, stem, calyx and corolla, the nature and frequency of the location of the epidermal trichomes of the analyzed specimen have been determined, which complements the anatomical characteristic the aerial part of *M. officinalis* L. For the first time the presence and localization of lipids, polysaccharides, phenolic compounds, flavonoids, essential oil components and terpenoids in the tissues and trichomes of raw materials have been established histochemically. Thus, the contents of the glands and glandular hairs are rich in hydrophilic and hydrophobic compounds, to a lesser extent in simple non-glandular covering trichomes. All trichomes carry out the secretion of essential oil components, which has been confirmed by histochemical tests.

For the first time, anatomical structures have been identified being the sites of localization and involved in the secretion of certain types of biologically active substances. For the first time fluorescence microscopy has been used to analyze the presence of lipids, chlorophyll, polysaccharides, flavonoids, and phenolic compounds in trichomes and melissa tissues. It is important to note the availability, simplicity and capacity of the histochemical method of the raw materials analysis, the prospects of its use in identifying medicinal plant materials and determining the nature and localization of the secretion of biologically active substances.

### Библиографический список

1. Марко Н.В., Хлыпенко Л.А., Логвиненко Л.А., Работягов В.Д. Генофондовая коллекция ароматических и лекарственных растений Никитского ботанического сада / Роль ботанических садов в сохранении и мониторинге биоразнообразия: сб. науч. тр. – Ростов-на-Дону, 2015. – С. 226–229.
2. Исиков В.П., Работягов В.Д., Хлыпенко Л.А., Логвиненко И.Е., Логвиненко Л.А., Кутько С.П., Бакова Н.Н., Марко Н.В. Интродукция и селекция ароматических и лекарственных культур. Методологические и методические аспекты. – Ялта: НБС–ННЦ, 2009. – 110 с.
3. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Т. 6. Семейства Hippuridaceae – Lobelaceae. – Наука, 1991. – 200 с.
4. Shakeri A., Sahebkar A., Javadi B. *Melissa officinalis* L. – A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology // *J Ethnopharmacol.* – 2016. – Т. 184. – С. 204–228. DOI:10.1016/j.jep.2016.05.010.
5. Moradkhani H., Sargsyan E., Bibak H. Naseri B., Sadat-Hosseini M., Fayazi-Barjin A., Meftahizade H. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: a review // *Journal of Medicinal Plants Research.* – 2010. Т. 4, №25. – С. 2753–2759.
6. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Авдеева Е. В., Болтабекова З.В. Качественный и количественный анализ сырья и настойки мелиссы // Растительные ресурсы. – 1999. – Т. 35, №3. – С. 116–120.
7. Heitz A., Carnat A., Fraisse D., Carnat A.P., Lamaison J.L. Luteolin 3'-glucuronide, the major flavonoid from *Melissa officinalis* subsp. *officinalis* // *Fitoterapia.* – 2000. – Т. 71, №2. – С. 201–202. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(99\)00118-5](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(99)00118-5).
8. Mencherini T, Picerno P, Scesa C, Aquino R. Triterpene, antioxidant and antimicrobial compounds from *Melissa officinalis* // *J Nat Prod.* – 2007. – Т. 70, №12. – С. 1889–1894. DOI: 10.1021/np070351s.
9. Abdellatif F., Boudjella H., Zitouni A., Hassani A. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of Algerian *Melissa officinalis* L. // *EXCLI J.* – 2014, №13. – С. 772–781.
10. Кулагин О.Л., Куркин В.А., Додонов Н.С., Царёва А.А., Авдеева Е.В., Куркина А.В., Дремова Е.А., Сатдарова Ф.Ш. Антиоксидантная активность некоторых фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды // Фармация. – 2007, № 2. – С. 30–32.
11. Зузук Б.М., Куцик Р.В. Мелисса лекарственная (*Melissa officinalis* L.). Аналитический обзор // Провизор. – 2002, №1. – Режим доступа: [http://www.provisor.com.ua/archive/2002/N1/art\\_36.php](http://www.provisor.com.ua/archive/2002/N1/art_36.php).
12. Проект ФС «Мелиссы лекарственной травы» (взамен ФС 42-3645-98): мат. по проектам общ. фармакоп. статей и фармакоп. статей. – Режим доступа: <https://www.rosminzdrav.ru/61/11/materialy-po-farmakopee>.
13. Taiwo A.E., Leite F.B., Lucena G.M., Barros M., Silveira D., Silva M., Ferreira V. Anxiolytic and antidepressant-like effects of *Melissa officinalis* (lemon balm) extract in rats: Influence of administration and gender // *Indian J Pharmacol.* – 2012. – Т. 44, №2. – С. 189–192. DOI: 10.4103/0253-7613.93846.
14. Feliu-Hemmelmann K., Monsalve F., Rivera C. *Melissa officinalis* and *Passiflora caerulea* infusion as physiological stress reducer // *Int J Clin Exp Med.* – 2013. – Т. 6, №6. – С. 444–451.
15. Куркин В.А., Мазур Л.И. Алексеева А.В., Авдеева Е.В. Мелисса лекарственная: перспективы использования в педиатрии: монография. – Самара: Офорт, 2010. – 164 с.
16. Морохина С.Л.. Бобкова Н.В., Сорокина А.А. Морфолого-анатомическое изучение нового успокоительного сбора // Фармация. – 2012, №3. – С. 21–24.
17. Luno V., Gil L., Olaciregui M., Jerez R.A., de Blas I., Hozbor F. Antioxidant effect of lemon balm (*Melissa officinalis*) and mate tea (*Ilex paraguensis*) on quality, lipid peroxidation and DNA oxidation of cryopreserved boar epididymal spermatozoa // *Andrologia.* – 2014. – Т. 47, №9. – Р. 1004–1011. DOI: 10.1111/and.12370.
18. Логвиненко Л.А., Хлыпенко Л.А., Марко Н.В. Ароматические растения семейства Lamiaceae для фитотерапии // Фармация и фармакология. – 2016. – Т. 4, №4. – С. 34–47. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-4-34-47.
19. Weidner C., Rousseau M., Plauth A., Wowro S.J., Fischer C., Abdel-Aziz H., Sauer S. *Melissa officinalis* extract induces apoptosis and inhibits proliferation in colon cancer cells through formation of reactive oxygen species // *Phytomedicine.* – 2015. – Т. 22, №2. – С. 262–270. DOI: 10.1016/j.phymed.2014.12.008.
20. ОФС 1.5.3.0003.15. Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов. Государственная фармакопея РФ. 13-е издание, т. 2, Москва, 2015. – Режим доступа: [http://193.232.7.120/feml/clinical\\_ref/pharmacopoeia\\_2/HTML/#379/z](http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_2/HTML/#379/z) (дата обращения 01.03.2016).
21. ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» Государственная фармакопея РФ. 13-е издание, т. 2, Москва, 2015. – Режим доступа: [http://193.232.7.120/feml/clinical\\_ref/pharmacopoeia\\_2/HTML/#272](http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_2/HTML/#272) (дата обращения 01.03.2016).
22. Федосеева Л.М., Кнауб Н.Н., Селигеева Т.Г. Гистохимический анализ листьев и корней лопуха большого (*Arctium lappa* L.), произрастающего на территории Алтайского края // Химия растительного сырья. – 2004, №1. – С. 61–64.
23. Разаренова К.Н., Бабушкина Е.В., Смирнов П.Д., Костина О.В., Муравник Л.Е. Гистохимия трихом официальных представителей семейства Lamiaceae // Медицинский альманах. – 2017, № 3. – С. 193–198. DOI: <http://dx.doi.org/10.21145/2499-9954-2017-3-193-198>.
24. Селиванов Е.В. Красители в биологии и медицине. Справочник. – Барнаул: Азбука, 2003. – 40 с.
25. Chwil M., Nurzynska-Wierdak R., Chwil S., Matraszek R., Neugebauerova J. Histochemistry and micromorphological diversity of glandular trichomes in *Melissa officinalis* L. leaf epidermis // *Acta Sci Pol Hortorum Cultus.* – 2016. – Т. 15, №3. – С. 153–172.

26. Hassan E.A., El-Awadi M.E.. Brief review on the application of histochemical methods in different aspects of plant research // Nat Sci. – 2013. – Т. 11, №12. – С. 54–67.
27. Liu M.Q., Liu J.F. Structure and histochemistry of the glandular trichomes on the leaves of *Isodon rubescens* (Lamiaceae) // African Journal of Biotechnology. – 2012. – Т. 11, №17. – С. 4069–4078. <http://dx.doi.org/10.5897/AJB11.4024>.
28. Самылина И.А., Аносова О.Г. Ермакова В.А., Бобкова Н.В., Фармакогнозия. Атлас. Учебное пособие: в 3-х т. – Т. 3. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 488 с.
29. Jia P., Gao T, Xin X. Changes in structure and histochemistry of glandular trichomes of *Thymus quinquecostatus* Celak // The Scientific World Journal – 2012. – Т. 2012. – С. 1–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1100/2012/187261>.
30. Chwil M.; Nurzyńska-Wierdak R.; Chwil S.; Matraszek R.; Neugebauerová J. Histochemistry and micromorphological diversity of glandular trichomes in *Melissa officinalis* L. leaf epidermis // Acta Sci Pol Hortorum Cultus. – 2016. – Т. 15, № 3. – С. 153–172.
31. Marin M, Budimir S, Janošević D, Marin PD, Duletić-Laušević S, Ljaljević-Grbić M. Morphology, distribution, and histochemistry of trichomes of *Thymus lycae* Degen & Jav. (Lamiaceae) // Arch Biol Sci, Belgrade. – 2008. – Т. 60, №4. – С. 667–672. DOI: <http://dx.doi.org/10.2298/ABS0804667M>.

### References

1. Marko NV, Khlypenko LA, Logvinenko LA, Rabotyagov VD. Genofondovaya kollektiya aromaticheskikh i lekarstvennykh rasteniy Nikitskogo botanicheskogo sada. [Gene stock collection of aromatic and medicinal plants of the Nikitsky Botanical Garden]. Rol botanicheskikh sadov v sokhranenii i monitoringe bioraznoobraziya: sb. nauch. tr. Rostov-na-Donu. 2015:226–9. Russian.
2. Isikov VP, Rabotyagov VD, Khlypenko LA, Logvinenko IE, Logvinenko LA, Kutko SP, Bakova NN, Marko NV. Introduktsiya i selektsiya aromaticheskikh i lekarstvennykh kultur. Metodologicheskiye i metodicheskiye aspekty. [Introduction and selection of aromatic and medicinal cultures. Methodological and methodological aspects]. Russia: NBS–NSC. 2009:110. Russian.
3. Rastitelnyye resursy SSSR. Tsvetkovyye rasteniya. ikh khimicheskiy sostav. ispolzovaniye. Semeystva Hippuridaceae – Lobelaceae. [Plant resources of the USSR. Flowering plants, their chemical composition, use. V. 2. Hippuridaceae families – Lobelaceae]. Russia: Science. 1991:200. Russian.
4. Shakeri A, Amirkhossein Sahebkar, Behjat Javadi. *Melissa officinalis* L. – A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. J Ethnopharmacol. 2016;188:204–28. DOI:10.1016/j.jep.2016.05.010.
5. Moradkhani H, Sargsyan E, Bibak H, Naseri B, Sadat-Hosseini M, Fayazi-Barjin A, Meftahizade H. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: a review. Journal of Medicinal Plants Research. 2010;4(25): 2753–59.
6. Kurkin VA, Zapesochnaya GG, Avdeyeva EV, Boltabekova ZV. Kachestvennyy i kolichestvennyy analiz syria i nastoyki melissy [Qualitative and quantitative analysis of raw materials and tinctures of lemon balm]. Rastitelnye resursy. 1999; 35(3):116–120. Russian.
7. Heitz A, Carnat A, Fraisse D, Carnat AP, Lamaison JL. Luteolin 3'-glucuronide, the major flavonoid from *Melissa officinalis* subsp. *officinalis*. Fitoterapia. 2000; 71(2):201–2. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(99\)00118-5](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(99)00118-5).
8. Mencherini T, Picerno P, Scesa C, Aquino R. Triterpene, antioxidant and antimicrobial compounds from *Melissa officinalis*. J Nat Prod. 2007;70(12):1889–94. DOI: 10.1021/np070351s.
9. Abdellatif F, Boudjella H, Zitouni A, Hassani A. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of Algerian *Melissa officinalis* L. EXCLI J. 2014;13:772–81.
10. Kulagin OL, Kurkin VA, Dodonov NS, Tsareva AA, Avdeyeva YeV, Kurkina AV, Dremova YeA, Satdarova FSh. Antioksidantnaya aktivnost nekotorykh fitopreparatov. soderzhashchikh flavonoidy i fenilpropanoidy [Antioxidative activity of some phytopreparations containing flavonoids and phenylpropanoids]. Pharmacy. 2007;2:30–32. Russian.
11. Zuzuk BM, Kutsik RV. *Melissa lekarstvennaya* [*Melissa officinalis* (*Melissa officinalis* L.)]. Analytical review]. Pharmacist. 2002;1. – Available at: [http://www.provisor.com.ua/archive/2002/N1/art\\_36.php](http://www.provisor.com.ua/archive/2002/N1/art_36.php). (accessed 01.03.2016). Russian.
12. Proyekt FS “Melissy lekarstvennoy travy” (vzamen FS 42-3645-98). Materialy po proyektam obshchikh farmakopeynykh statey i farmakopeynych statey [Project pharmacopoeial monograph “Melissa medicinal herb” (instead of PhM 42-3645-98). Materials on projects of general pharmacopoeial articles and pharmacopoeial articles]. Available at: <https://www.rosminzdrav.ru/61/11/> materially-po-farmakopee. Russian.
13. Taiwo AE, Leite FB, Lucena GM, Barros M, Silveira D, Silva M, Ferreira V. Anxiolytic and antidepressant-like effects of *Melissa officinalis* (lemon balm) extract in rats: Influence of administration and gender. Indian J Pharmacol. 2012;44(2):189–92. DOI: 10.4103/0253-7613.93846.
14. Feliu-Hemmelmann K, Monsalve F, Rivera C. *Melissa officinalis* and *Passiflora caerulea* infusion as physiological stress decreaser. Int J Clin Exp Med. 2013;6(6):444–51.

15. Kurkin VA, Mazur LI, Alekseyeva AV, Avdeyeva EV. Melissa lekarstvennaya: perspektivy ispolzovaniya v pediatrii [Melissa officinalis: prospects for use in pediatrics: monograph]. Russia, Samara. 2010:164.
16. Morokhina SL, Bobkova NV, Sorokina AA. Morfologo-anatomiceskoye izucheniiye novogo uspokoitelnogo sбora [Novel nervine tea: morphological and anatomic investigations]. Pharmacy. 2012;3:21–4.
17. Luno V, Gil L, Olaciregui M, Jerez RA., de Blas I, Hozbor F. Antioxidant effect of lemon balm (*Melissa officinalis*) and mate tea (*Ilex paraguensis*) on quality, lipid peroxidation and DNA oxidation of cryopreserved boar epididymal spermatozoa. Andrologia. 2014;47(9):1004–11. DOI: 10.1111/and.12370.
18. Logvinenko LA, Khlypenko LA, Marko NV. Aromatic plant of Lamiaceae family for use in phytotherapy. Pharmacy & Pharmacology. 2016;4(4):34–47. DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-4-34-47/>.
19. Weidner C, Rousseau M, Plauth A, Wowro SJ, Fischer C, Abdel-Aziz H, Sauer S. *Melissa officinalis* extract induces apoptosis and inhibits proliferation in colon cancer cells through formation of reactive oxygen species. Phytomedicine. 2015;22(2):262–70. DOI: 10.1016/j.phymed.2014.12.008.
20. OFS 1.5.3.0003.15. Tekhnika mikroskopicheskogo i mikrokhimicheskogo issledovaniya lekarstvennogo rastitel'nogo syria i lekarstvennykh rastitelnykh preparatov. Gosudarstvennaya farmakopeya RF [OFS 1.5.3.0003.15. The technique of microscopic and microchemical studies of medicinal plants and medicinal plants. State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. 13th edition, V. 2, Moscow, 2015. – Available at: [http://193.232.7.120/feml/clinical\\_ref/pharmacopoeia\\_2/HTML/#379/z](http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_2/HTML/#379/z) (accessed 01.03.2016).
21. OFS.1.5.1.0002.15 «Travy» Gosudarstvennaya farmakopeya RF [OFS.1.5.1.0002.15 “Herbs” State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. 13th edition, V. 2, Moscow, 2015. Available at: [http://193.232.7.120/feml/clinical\\_ref/pharmacopoeia\\_2/HTML/#272](http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_2/HTML/#272) (accessed 01.03.2016).
22. Fedoseyeva LM, Knaub N, Seligeyeva TG. Gistokhimicheskiy analiz listyev i korney lopukha bolshogo (*Arctium lappa* L.) proizrastayushchego na territorii altayskogo kraya [Histochemical analysis of leaves and roots of burdock (*Arctium lappa* L.) growing on the territory of the Altai Territory]. Chemistry of plant raw materials. 2004;1:61–4.
23. Razarenova KN, Babushkina EV, Smirnov PD, Kostina OV, Muravnik LE. Gistokhimiya trikhom ofitsinalnykh predstaviteley semeystva Lamiaceae [Histochemistry of officinal trichomes representing Lamiaceae family]. Medicinskij al'manah. 2017;3:193–198. DOI: <http://dx.doi.org/10.21145/2499-9954-2017-3-193-198>.
24. Selivanov EV. Krasiteli v biologii i meditsine [Dyes in biology and medicine: Handbook]. Barnaul. 2003. 40 p.
25. Chwil M, Nurzynska-Wierdak R, Chwil S, Matraszek R, Neugebauerova J. Histochemistry and micromorphological diversity of glandular trichomes in *Melissa officinalis* L. leaf epidermis. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus. 2016;15(3):153–72.
26. Hassan AE, El-Awadi ME. Brief review on the application of histochemical methods in different aspects of plant research. Nat Sci. 2013;11(12):54–67.
27. Liu MQ, Liu JF. Structure and histochemistry of the glandular trichomes on the leaves of *Isodon rubescens* (Lamiaceae). African Journal of Biotechnology. 2012;11(17):4069–78. DOI: <http://dx.doi.org/10.5897/AJB11.4024>.
28. Samylina IA, Ermakova VA, Bobkova NV, Anosova OG. Farmakognosiya. Atlas: uchebnoye posobiye: v 3-kh t. [Pharmacognosy. Atlas. Study guide: in 3 vol.]. Moscow: GEOTAR-Media. 2009; V. 3. 488 p.
29. Jia P, Gao T, Xin X. Changes in Structure and Histochemistry of Glandular Trichomes of *Thymus quinquecostatus* Celak. The Scientific World Journal. 2012;2012:1–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1100/2012/187261>.
30. Chwil M, Nurzynska-Wierdak R, Chwil S, Matraszek R, Neugebauerová J. Histochemistry and micromorphological diversity of glandular trichomes in *Melissa officinalis* L. leaf epidermis. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus. 2016;15(3):153–72.
31. Marin M, Budimir S, Janošević D, Marin PD, Duletić-Laušević S, Ljaljević-Grbić M. Morphology, distribution, and histochemistry of trichomes of *Thymus lycae* Degen & Jav. (Lamiaceae). Arch Biol Sci, Belgrade. 2008;60(4):667–72. DOI: <http://dx.doi.org/10.2298/ABS0804667M>.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest.

**Благодарности**

Авторы статьи выражают особую благодарность Телицыной Ирине Владимировне, преподавателю кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России за консультативную помощь при подготовке и коррекции исследовательских материалов.

**Авторы**

**Никитина Ангелина Сергеевна** – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель

**Acknowledgments**

The authors express their special gratitude to Telitsyna Irina Vladimirovna, a lecturer of the Department of Pharmacognosy, Botany and Phytopreparation Technology (Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University) for advice on the preparation and correction of research materials.

**Authors**

**Nikitina Angelina Sergeevna** – PhD (Pharmacy), Senior lecturer, Department of Pharmacognosy,

кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фармакогностическое изучение и стандартизация лекарственного растительного сырья. ORCID: 0000-0002-8536-6567. E-mail: lina\_nikitina@mail.ru

**Логвиненко Лидия Алексеевна** – научный сотрудник лаборатории ароматических и лекарственных растений ФГБУН «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», пгт. Никита, Республика Крым. Область научных интересов: интродукция и селекция лекарственных растений, куратор коллекции лекарственных растений.

**Никитина Наталья Владимировна** – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры технологии с курсом биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: технология фитопрепаратов, фитоэкстракты. E-mail: n\_niki7@mail.ru.

**Нигарян Сирануш Артуровна** – аспирант 1-го года обучения кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фармакология, клиническая фармакология. ORCID: 0000-0001-9898-0518. E-mail: 79682650210@yandex.ru

*Botany and Phytopreparation Technology Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: phytochemistry, pharmacognostic study and standardization of medicinal plants, essential oils. ORCID: 0000-0002-8536-6567. E-mail: lina\_nikitina@mail.ru*

*Logvinenko Lidiya Alekseevna* – Researcher of the Laboratory of Aromatic and Medicinal Plants in Nikitsky Botanical Garden – National Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Republic of Crimea. Research interests: introduction and selection of medicinal plants, supervisor of the collection of medicinal plants.

*Nikitina Natal'ya Vladimirovna* – PhD (Pharmacy), Senior lecturer, Department of Technology with a course of biotechnology, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: technology of phytopreparations, phytoextracts. E-mail: n\_niki7@mail.ru

*Nigaryan Siranush Arturovna* – 1st year graduate student of the Department of Pharmacology with a course of Clinical Pharmacology, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: pharmacology, clinical pharmacology. ORCID: 0000-0001-9898-0518. E-mail: 79682650210@yandex.ru

Поступила в редакцию: 21.05.2018

Received: 21.05.2018

Отправлена на доработку: 23.09.2018

Sent back for revision: 23.09.2018

Принята к печати: 23.11.2018

Accepted for publication: 23.11.2018