

DOI:10.33617/2522-9680-2019-4-55

УДК: 615.322:582.929.4:543.635.33].074

ДОСЛІДЖЕННЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ТРАВИ ЧЕБРЕЦЮ ЛИМОННО-ЗАПАШНОГО (*THYMUS X CITRIODORUS* VAR. «*SILVER QUEEN*»)

- ¹ Я. М. Стешенко, аспір. каф. фармакогн., фармхім. і технол. лік.
- ¹ О. В. Мазулін, д. фарм. н., проф., зав. каф. фармакогн., фармхім. і технол. лік.
- ¹ Г. П. Смойловська, к. фарм. н., доц. каф. фармакогн., фармхім. і технол. лік.
- ¹ Г. В. Мазулін, к. фарм. н., асист. каф. фармакогн., фармакол. та ботан.
- ² Т. В. Опрошанська, к. фарм. н., доц. каф. якості, стандартиз. та сертиф. лік.
- ¹ Запорізький державний медичний університет
- ² ІПКСФ Національного фармацевтичного університету, м. Харків

Вступ

Актуальною проблемою сучасної фармакогнозії є поглиблене фітохімічне дослідження перспективних видів рослин з достатньою сировинною базою для створення нових лікарських засобів з вираженою протизапальною, протиерозійною та протимікробною дією [8, 9, 10].

Вільні жирні кислоти або у складі жирів та жирних олій накопичуються у насінні, суцвіттях, листі та траві багатьох видів. Ці речовини є незамінні для нормального біогенезу сполук у рослинах та біологічно цінними для терапії різноманітних захворювань людини. У рослинній сировині їх ідентифікують у клітинах паренхіми у вигляді забарвлених крапель після додавання реактиву судану III або алканину та після виділення у чистому вигляді за реакцією Беллієра. Найбільший кількісний вміст жирних кислот спостерігається у насінні та траві видів родин: капустяні, макові, льонові, маслинові, глухокропивні, айстрові [5, 7].

Поліненасичені жирні кислоти відіграють важливу роль в організмі людини. Вони містяться лише в рослинних жирних оліях, але не синтезуються в організмі людини. Найбільш важливі це лінолева, ліноленова та арахідонова кислоти, які є незамінними. Вони регулюють обмін біологічно активних речовин на рівні клітинних мембран, забезпечують нормальний ріст та розвиток організму, обумовлюють міцність стінок кровоносних судин, підвищують стійкість організму до шкідливого впливу ультрафіолетового та радіаційного опромінення, виявляють виражену протизапальну, антиоксидантну та імуномодельючу дію. З жирних кислот під дією ферментів в організмі людини утворюється оцтова кислота, яка має високореакційну активність у багатьох важливих біохімічних реакціях. При цьому спостерігається покращання кровообігу, зменшення ваги тіла, підвищення репродуктивної функції [3, 6, 7].

Визначення якісного складу та кількісного вмісту жирних кислот у рослинній сировині дає можливість прогнозувати біологічну дію рослинних лікарських засобів на їх основі та встановлювати специфічні показники якості, які

мають важливе теоретичне та практичне значення при дослідженні видів [5, 7].

Перспективним для сучасної фітотерапії є одержання ліпофільних екстрактів з високим вмістом жирних кислот з рослинної сировини видів роду чебрець (*Thymus L.*), які мають переважно поліненасичену структуру та виявляють виражену протизапальну, антимікробну та антиоксидантну активність [6, 9, 11, 14].

Рід *Thymus L.* з ботанічної точки зору надзвичайно різноманітний і складається з ряду споріднених видів, форм, гібридів та сортів, які можуть бути успішно віднесені до певних територій, регіонів або умов зростання. Вони мають певні морфолого-анатомічні та мікроскопічні відмінності один від одного. У дикорослому стані флора України у наш час нараховує тільки до 50 найбільш розповсюджених дикорослих видів роду [2, 4, 13].

З трави рослин у сучасній медичній практиці широко використовують екстракційні фітопрепарати та дієтичні добавки рослинного походження для зовнішнього та внутрішнього застосування з вираженою протизапальною, ранозагоювальною та протимікробною дією: «Бронхіпрет», «Вітаон» (Бальзам Караваєва), «Джерело», «Пектолван фіто ісландський мох» (екстракт складний відхаркувальний), «Пертусін» (сироп рідкий), «Предзарен», «Санорин аква Nature спреї-назал», «Соматон» (Бальзам Караваєва), «Соматон-люкс» (Бальзам Караваєва), «Стоптуссин фіто», «Фемінал», та ін. [3, 6].

У різних країнах світу постійно здійснюється моніторинг перспективних видів роду *Thymus L.* з метою отримання якісної рослинної сировини та фітопрепаратів на її основі [8-13]. Нині в Україні та світі відомі декілька сортів чебрецю, отриманих гібридизацією видів *Thymus pulegioides L.* (чебрець блошиний син. *Thymus ovatus Mill.* (чебрець округлий), *Thymus vulgaris L.* (чебрець звичайний), *Thymus serpyllum L.* (чебрець повзучий). До них слід віднести: «Сильвер Кувін», «Донна Варлей», «Голден Дуарф», «Бертрам Андерсон», «Голд Седж», «Голден Кінг», «Спайси Орандж». Перспективним для вирощування в умовах країн центральної Європи та Середземномор'я

є чебрець лимоннозапашний (*Thymus x Citriodorus*, var. «*Silver Queen*»), гібрид чебрецю блошиного (*Thymus pulegioides* L.) та чебрецю звичайного (*Thymus vulgaris* L.). Це напівкущ висотою 10-35 см. Стебла чотирьохгранні, коротко опушені тільки по ребрах. Суцвіття головчасті, колосоподібні, утворені несправжніми кільцями квіток у пазухах. Квітки дрібні, зібрані в складні дихазальні суцвіття. Вінчик двогубий, блідо рожевий. Листки великі, до 10-12 мм довжиною та 5 мм шириною, овальні. Чашечка під час цвітіння 3-3,5 мм довжиною, при плодах до 4,5 мм. Плід – ценобій має вигляд чотирьох горішків.

Значні біологічні ресурси сорту, успішне вирощування у культурі, надають можливості для успішної заготівлі в умовах південної та центральної України. У складі трави видів, які були використані для отримання досліджуваного сорту (*Thymus x Citriodorus* var. «*Silver Queen*»), фітохімічними дослідженнями встановлено присутність ефірної олії, флавоноїдних агліконів та глікозидів (апігеніну, лютеоліну, еріоцитрину, діосміну), розмаринової та похідних хлорогенової кислоти, жирних кислот. Але хімічний склад біологічно активних жирних кислот рослинної сировини *Thymus x Citriodorus* var. «*Silver Queen*» до нашого часу не визначений [12].

Метою даної роботи було: дослідження якісного складу та кількісного вмісту жирних кислот у жирній олії з трави чебрецю лимоннозапашного.

Матеріали та методи дослідження

Траву чебрецю лимоннозапашного заготовлено у 2017-2018 рр. під час цвітіння (серпень-вересень) у Запорізькій, Полтавській Дніпропетровській, Херсонській, Одеській, Миколаївській областях відповідно до вимог ДФУ [1]. Сушіння проведено у сушильній шафі «Termolab СНОЛ 24/350» (Україна) за температурою 35 °С протягом 12 год. Повітряно-суху траву подрібнювали і екстрагували н-гексаном (1:2) в апараті Сокслета протягом 4 год. Метилування ліпідної фракції проводили розчином метилату натрію у метанолі 0,5 % протягом 24 год. [5, 7].

Визначення якісного складу та кількісного вмісту метилових естерів жирних кислот у складі жирної олії проводили на приладі ГРХ «HP-6890 series» з полум'яно-іонізаційним детектором. Застосовували капілярну колонку з параметрами: температура термостату 196 °С, інжектора 250 °С, детектора 275 °С. Газ-носіє – азот, швидкість потоку – 40 мл/хв, об'єм проби 1 мкл. Для розрахунку кількісного вмісту компонентів використовували метод внутрішньої нормалізації з застосуванням стандартних зразків речовин [5, 7]. Отримані результати були оброблені методом математичної статистики за ліцензійною програмою “Statistica 6.0 for Windows” (Stat. Soft. Inc., №AXXR712D833214FANS).

Ліпофільний екстракт з трави досліджуваного виду був отриманий екстракцією кукурудзяною олією (1:5) на ультразвуковій установці «УЗДН-А1200Т» при робочій частоті 50 Гц (t = +40 °С) протягом 2 год.

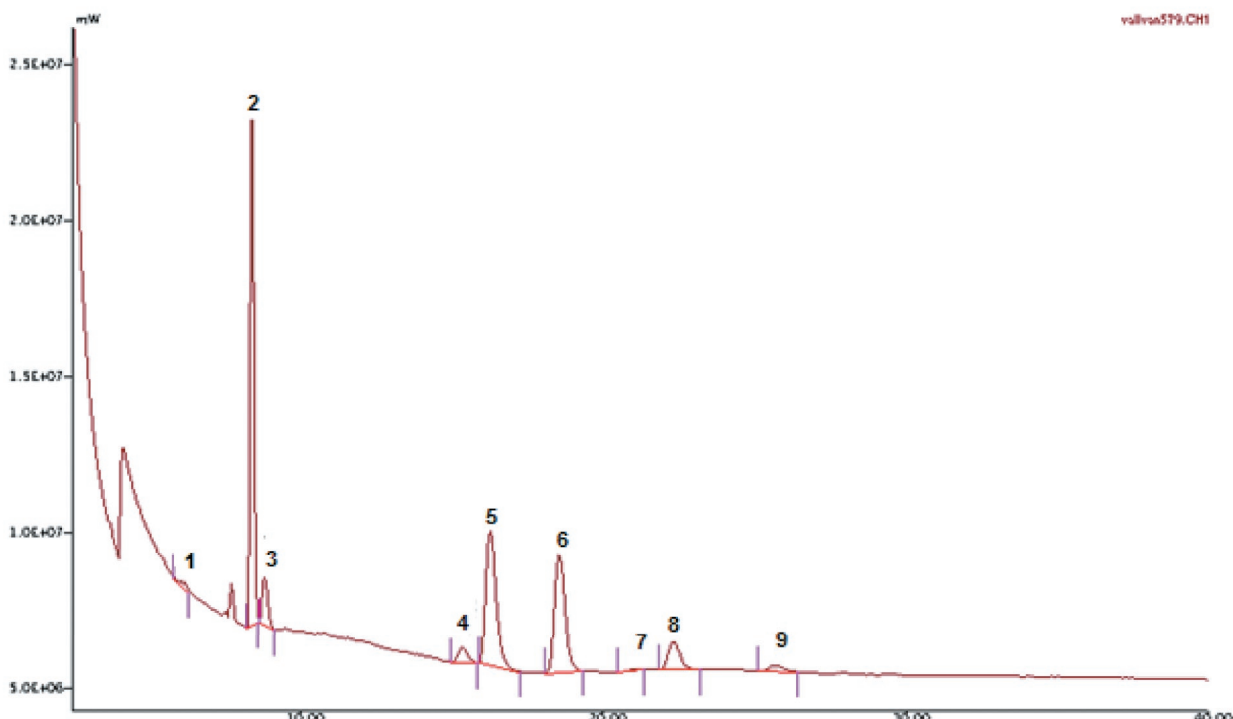


Рис. Результати ГРХ аналізу компонентного складу метилових естерів жирних кислот у складі жирної олії з трави чебрецю лимоннозапашного: 1 – міристинова, 2 – пальмітинова, 3 – пальмітоолеїнова, 4 – стеаринова, 5 – олеїнова, 6 – лінолева, 7 – арахінова, 8 – ліноленова, 9 – ейкозодієнова

Компонентний склад та кількісний вміст жирних кислот у складі жирної олії з трави *Thymus x Citriodorus* var. «Silver Queen», заготовленої у м. Володимирівка Запорізької області (червень-серпень 2018 р.), ($\bar{x} + \Delta\bar{x}$)%, $n=6$

Час утримання, хв.	Метиллові естери жирних кислот	Індекс кислоти	Кількісний вміст компонентів (%)
Насичені жирні кислоти			
5,818	Міристинова (тетрадеканова)	C14:0	0,49± 0,04
8,353	Пальмітинова (гексадеканова)	C16:0	28,97± 2,63
8,770	Пальмітоолеїнова	C16:1	4,89± 0,41
15,288	Стеаринова (октадеканова)	C 18:0	2,97± 0,27
Вміст суми насичених жирних кислот серед ідентифікованих			37,32 ± 3,11
Ненасичені жирні кислоти			
16,200	Олеїнова	C18:1	28,16± 2,23
18,457	Лінолева (октадекатрієнова),	C 18:2	25,57± 2,56
21,202	Арахінова	C 20:0	0,36± 0,03
22,227	Ліноленова	C18:3	6,82± 0,62
25,605	Ейкозодієнова	C20:2	1,78 ± 0,16
Вміст суми ненасичених жирних кислот серед ідентифікованих			62, 68± 5,70

Результати дослідження та їх обговорення

Ваговим методом з використанням апарату Сокслета встановлено, що накопичення жирної олії у траві досліджуваного виду становило до 1,23±0,11 %. Під час досліджень у н-гексановому екстракті з трави чебрецю лимонно запашного ідентифіковано 9 жирних кислот. Отримані результати наведені на рис. 1 в таблиці.

Аналіз отриманих результатів свідчить про значний рівень накопичення жирної олії у траві чебрецю лимоннозапашного (до 1,23±0,11 %). Більшою мірою в її складі були присутні біологічно активні ненасичені жирні кислоти, до 62,68±5,70 %: олеїнова (28,16±2,23 %), лінолева (25,57±2,56 %), ліноленова (6,82±0,62 %), ейкозодієнова (1,78±0,16 %), арахінова (0,36±0,03 %).

Насичені жирні кислоти у складі досліджуваної жирної олії склали до 37,32±3,11 %: міристинова (0,49±0,04 %), пальмітинова (28,97±2,63 %), пальмітоолеїнова (4,89±0,41 %), стеаринова (2,97±0,27 %).

В експериментах на нелінійних щурах ліпофільний екстракт з трави чебрецю лимоннозапашного був віднесений до майже нетоксичних ($LD_{50} > 20000$ мг/кг). На щурах лінії «Вістар» він виявляє виражену протизапальну, протиерозійну та антиоксидантну дію на

моделі фенолового вульвовагініту, яка співвідносна з активністю референтного препарату «Олія обліпихи».

Висновки

У результаті проведених досліджень трави *Thymus x Citriodorus* var. «Silver Queen», заготовленої з різних місць України, встановлено накопичення жирної олії, специфічний склад та кількісний вміст жирних кислот у її складі. Методом ГРХ ідентифіковано та встановлено накопичення 9 жирних сполук. Переважали поліненасичені жирні кислоти (62,68±5,70 %): олеїнова, лінолева, ліноленова, ейкозодієнова, арахінова. З насичених жирних кислот (37,32±3,11 %) ідентифіковані та кількісно визначені: пальмітинова, пальмітоолеїнова, стеаринова, міристинова. Ліпофільний екстракт з трави рослини в експериментах на нелінійних щурах віднесений до майже нетоксичних речовин ($LD_{50} > 20000$ мг/кг). Він виявляє виражену протизапальну, протиерозійну та антиоксидантну дію на моделі фенолового вульвовагініту на щурах лінії «Вістар», яка співвідносна з активністю референтного препарату «Олія обліпихи».

Литература

1. Державна Фармакопея України. 1-е вид. Доповнення 3. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – Х.: 2009. 279 с.
2. Крицька Л. І. Типікація видів судинних рослин, описаних із України: Родина *Lamiaceae* (рід *Thymus*) // Укр. ботан. журн. – 2014. – Т. 71, № 3. – С. 301-307.
3. Машковский М. Д. Лекарственные средства. 16-е изд., перераб. и доп. М.: ООО Изд-во Новая волна, 2012. – 1216 с.
4. Определитель высших растений Украины / Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин [и др.]; под ред. Ю. Н. Прокудина. К.: Наук. думка, 1987. – 548 с.
5. Практикум по фармакогнозії: Учеб. пособие для студ. вузов / В. Н. Ковалев, Н. П. Попова, В. С. Кисличенко [и др.]; Под общ. ред. В. Н. Ковалева. – Х.: НФаУ; Золотые страницы, 2003. – 512 с.
6. Современные комплексные фитопрепараты и растительные пищевые диетические добавки: справочное пособие для студентов, провизоров-интернов высших медицинских и фармацевтических учебных заведений III-IV уровней аккредитации / А. В. Мазулин, А. А. Остапенко, Г. В. Мазулин [и др.] // Запорожье: ФЛП Систе-рова Н. А., 2019. – 460 с.
7. Тринеева О. В., Сливкин А. И. Изучение жирнокислотного состава растительных масел и масляных экстрактов фармацевтического назначения методами ГЖХ и ИКС // Сорбцион. и хромато-

граф. процессы. – 2008. – Т. 16, № 2. – С. 212-219.

8. Antimicrobial activity and chemical composition of the Thymus essential oil and the polyphenolic content of different Thymus extracts / E. Varga, A. Bardocz, A. Belak [et al.] // Farmacia. 2015. – Vol. 63, № 3. – P. 357-361.

9. Antioxidant activity and polyphenol content of different of Turkish Thyme (*Thymus vulgaris*) monitored by liquid chromatography and tandem mass spectrometry / E. Koksal, I. Gulcin, M. Korkmaz [et al.] // Internat. J. Food Propert. – 2017. – Vol. 20, № 3. – P. 514-525.

10. Comparison of the Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Thymus serpyllum* Essential Oils / A. Wesolowska, M. Grzeszczuk, D. Jadczyk [et al.] // Nor. Bot. Hort. Agrobot. – 2015. – Vol. 43, №. 2. – P. 432-438.

11. Metabolites and Biological Activities of *Thymus zygis*, *Thymus pulegioides* and *Thymus frage antissimus* Grown under Organic Cultivation /

A. F. Afonso, O. R. Pereira, M. Vólga [et al.] // Molecules. – 2018. – Vol. 23, № 7. – P. 1514-1543. <https://doi.org/10.3390/molecules23071514>.

12. Smolik M. Assessment of Morphological and Genetic Variability in some *Thymus* Accessions Using Molecular Markers / M. Smolik, D. Jadczyk, S. Korzeniewska // Not. Bot. Agrobot. Cluj. – 2009. – Vol. 37, № 2. – P. 234-240. <https://doi.org/10.15835/nbha372313>.

13. Stahl-Biskup E., Saez F. Thyme: The genus *Thymus*. London, NewYork. – 2002. – 346 s.

14. Wisam S. U. Antioxidant Activities of Thyme Extracts / S. U. Wisam, T. K. Nahla, N. M. Tariq // Pakistan J. Nutrit. – 2018. – Vol. 17, № 1. – P. 46-50. <https://doi.org/10.3923/pjn>.

Надійшла до редакції 01.11.2019

УДК: 615.322:582.929.4:543.635.33].074

DOI:10.33617/2522-9680-2019-4-55

Я. М. Стешенко, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська,
Г. В. Мазулін, Т. В. Опрошанська

ДОСЛІДЖЕННЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ТРАВИ ЧЕБРЕЦЮ ЛИМОННОЗАПАШНОГО (*THYMUS X CIRIODORUS* VAR. «SILVER QUEEN»)

Ключові слова: газо-рідинна хроматографія, трава, чебрець лимоннозапашний, метилові естери жирних кислот, протизапальна, протиерозійна, антиоксидантна дія.

Методом Сокслета та ГРХ досліджено склад та кількісний вміст жирних кислот у траві *Thymus x ciriodorus* var. «Silver Queen». Встановлено кількісний вміст жирної олії до 1,23±0,11 %. Ідентифіковані та визначені 5 поліненасичених жирних кислот (62,68±5,70 % від складу): олеїнова, лінолева, ліноленова, ейкозодієнова, арахінова. Ідентифіковані та визначені 4 насичені жирні кислоти (37,32±3,11 % від складу): міристинова, пальмітинова, пальмітоолеїнова, стеаринова. Ліпофільний екстракт отримано на пристрої «УЗДН-А1200Т» при робочій частоті 50 Гц (t = +40 °C) екстракцією кукурудзяною олією протягом 2 год. Гостра токсичність в експериментах на щурах становила ЛД₅₀ > 20000 мг/кг. В експериментах на щурах лінії «Вістар» ліпофільний екстракт виявляє виражену протизапальну, протиерозійну та антиоксидантну дію. Рослина сировина чебрецю лимоннозапашного перспективна для отримання ліпофільних екстрактів з вираженою фармакологічною активністю.

Я. Н. Стешенко, А. В. Мазулин, Г. П. Смойловская,
Г. В. Мазулин, Т. В. Опрошанская

ИЗУЧЕНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ТРАВЫ ТИМЬЯНА ЛИМОННОГО (*THYMUS X CIRIODORUS* VAR. «SILVER QUEEN»)

Ключевые слова: газо-жидкостная хроматография, трава, тимьян лимонный, метиловые эфиры жирных кислот, противовоспалительная, антиэрозийная, антиоксидантная активность.

Методом Сокслета и ГЖХ изучен состав и количественное содержание жирных кислот в траве *Thymus x ciriodorus* var. «Silver Queen». Установлено количественное содержание жирного масла до 1,23±0,11 %. Идентифицированы и определены количественно 5 полиненасыщенных жирных кислот (62,68±5,70% от состава): олеи-

новая, линолевая, линоленовая, ейкозодиєнова, арахиновая. Идентифицированы и определены количественно 4 насыщенные жирные кислоты (37,32±3,11 % от состава): миристиновая, пальмитиновая, пальмитолеиновая, стеариновая. Ліпофільний екстракт получен на приборе «УЗДН-А1200Т» при рабочей частоте 50 Гц (t = +40 °C) экстракцией кукурузным маслом в течение 2 час. Острая токсичность в экспериментах на нелинейных крысах составляла ЛД₅₀ > 20000 мг/кг. В экспериментах на крысах линии «Вістар» ліпофільний екстракт проявляет выраженное противовоспалительное, антиэрозийное, антиоксидантное действие. Растительное сырье тимьяна лимонного перспективно для получения ліпофільних екстрактів с выраженной фармакологической активностью.

J. M. Steshenko, O. V. Mazulin, G. P. Smoylovska, G. V. Mazulin,
T. V. Oproshanska

DETERMINATION OF FATTY ACIDS COMPONENTS COMPOSITION IN *THYMUS X CIRIODORUS* VAR. «SILVER QUEEN» HERBAL RAW MATERIAL

Keywords: GLC, herbs, *Thymus x ciriodorus* var. «Silver Queen», methyl esters of fatty acids, antiinflammatory, antierosive, antioxidant activities.

By Sokslet and GLC methods were studied the quantitative content and composition of fatty acids in the herb of *Thymus x ciriodorus* var. «Silver Queen». The quantitative content of fatty oil was established up to 1,23±0,11%.

Five polyunsaturated fatty acids (62,68±5,70 % of the composition) were identified and quantified: oleic, linoleic, linolenic, necosodiene and arachinic. Four saturated fatty acids (37,32±3,11 % of the composition) were identified and quantified: myristic, palmitic, palmitoleic, stearic. The lipophilic extract was obtained on ultrasonic installation "UZDN-A1200T" at an operating frequency of 50 Hz (t = +40 °C) by 2 hours extraction with corn oil. Acute toxicity in experiments on nonlinear rats was LD₅₀ > 20,000 mg/kg. In experiments on rats of the "Wistar" strain, the lipophilic extract exhibits a pronounced antiinflammatory, antierosive, antioxidant activity. The *Thymus x ciriodorus* var. «Silver Queen» herbal raw material is promising for the obtaining of herbal remedies with high pharmacological activities based on lipophilic extracts.

