

**УДК: 615.322:582.924.4'19:547.631.4**

**ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ТРАВИ ТА  
ЛЮФІЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ THYMUS VULGARIS L.**

Фуклева Л. А., к. фарм. н., ас. каф. фармакогн., фармхімії і технол. ліків

*Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя*

Мазулін О. В., д. фарм. н., проф., зав. каф. фармакогн., фармхімії і технол.

ліків

*Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя*

Смойловська Г. П., к. фарм. н., доц. каф. фармакогн., фармхімії і технол.

ліків

*Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя*

Остапенко А. О., к. фарм. н., ст. викл. каф. лабораторної діагностики та

загальної патології

*ДЗ Запорізька медична академія післядипломної освіти*

Мазулін Г. В., канд. фарм. н., асистент. каф. фармакогнозії, фармакології та

ботаніки

*Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя*

Рід чебрець (*Thymus L.*) родини ясноткові (*Lamiaceae*) розповсюджені в Європі, Азії, північній Африці, країнах Середземномор'я та налічує більш ніж 150 видів. Рослини роду характеризуються різноманіттям біологічних форм, успішно прилаштовуються к умовам досить різноманітних природних біоценозів або культивуються в спеціалізованих господарствах [1, 6, 8, 9]. У країнах Європи найпоширеніші види з високим вмістом суми тимолу та карвакролу в складі ефірної олії (понад 30%): *Thymus vulgaris L.* (чебрець звичайний), два подвиди *Th. zygis L.* (*Th. zygis L. var. gracilis Bois.* – ч. іспанський білий тонкий; *Th. zygis L. var. floribundus Bois.* – ч. іспанський білий квітучий) [10, 15]. До ДФУ 2 видання та Європейської

Фармакопеї 8 видання включені *Serpylli herba* (ч. повзучий) та суміш трави *Th. vulgaris L.* з *Th. zygis L.* [2, 3].

Трава *Th. vulgaris L.* та фітопрепарати з них популярні при лікуванні різноманітних хвороб верхніх дихальних шляхів. Терапевтична активність рослини пов'язана з великим вмістом біологічно активних сполук. Згідно останніх фітохімічних досліджень трава чебрецю звичайного містить: до 0,5-2,0% ефірної олії з компонентним складом до 360 летучих сполук, флавоноїди (лютеолін, апігенін, цинарозид, акацетин, skutellarеїн, норнепетин, байкалеїн, диосметин та ін.), гідроксикоричні кислоти (кавова, ферулова, хінна, хлорогенова, розмаринова), тритерпенові сполуки (олеанолова, урсолова кислота), амінокислоти, полісахариди, дубильні речовини, неорганічні елементи [4, 9, 12, 13, 14].

Багатий компонентний склад рослин, перш за все, високий вміст тритерпенів, флавоноїдів і гідроксикоричних кислот, сприяє прояві протизапальної, антиоксидантної, антимікробної, детоксикаційної активності [8, 11]. У сучасній медицині використовують комплексні фітопрепарати з трави та ефірних олій видів роду *Thymus L.*: «Пертусін», «Піносол», «Алталекс», «Бронхікум», «Бронхіпрет», «Бронхостоп», «Ментоклар», «Пекторал», «Соматон» та ін. [4, 5].

Метою даної роботи було: дослідження якісного складу та кількісного вмісту флавоноїдів та гідроксикоричних кислот методом ВЕРХ у траві та ліофільному екстракті чебрецю звичайного (*Thymus vulgaris L.*).

### **Матеріали та методи дослідження**

В якості об'єкту дослідження використовували траву *Thymus vulgaris L.*, що представляла собою квітучі верхові пагони з суцвіттям довжиною до 15 см, окремі листки та частки гілочок.

Рослинну сировину заготовляли в південних та східних регіонах України, на території яких розповсюджений *Thymus vulgaris L.* як звичайна культивована рослина (АР Крим, Запорізька, Дніпропетровська, Херсонська, Донецька, Миколаївська, Одеська області). Заготівлю сировини

проводили згідно загальноприйнятим методикам. Процес сушіння здійснювали у сушильній шафі при температурі 35<sup>0</sup>С і товщині шару не більш ніж 1 см.

Ліофільні екстракти (ЛЕ) були одержані в лабораторних умовах методом сублімаційного сушіння водних витягів з трави рослини (1:5) в асептичних умовах на установці КС–30 (Чехія).

Отримані ЛЕ були гігроскопічними, повітряно-аморфними порошками світло-жовтого кольору, добре розчинні в воді та спирті етиловому, нерозчинні в хлороформі, ацетоні, ефірі. Вихід кінцевого продукту складав до 30,44 ± 3,00%, при вологості 3,22 ± 0,31%.

Відомо, що для ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у рослинній сировини та екстрактах широко використовують фізико-хімічні методи аналізу (спектрофотометрію, фотоелектроколориметрію, потенціометрію, флюорометрію, ІЧ–спектроскопію, ПМР–спектроскопію, ТШХ, ВЕРХ) [7, 8]. Слід зазначити, що найбільш перспективним є метод ВЕРХ на мікрокапілярних колонках, який дає можливість проведення розділення досліджуваних компонентів, ідентифікації їх якісного складу й кількісного визначення концентрацій.

Для проведення досліджень використовували пристрій Agilent Technologies (мод. 1100), з вакуумним дегазатором G1379A, насосом низького тиску G13111A з чотирма каналами, інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, детектором G1316A. Хроматографічна колонка (2,1×150 мм) була заповнена октадецилсілільним сорбентом “ZORBAX–S BC–1 8” (d=3,5 мкм).

Точну наважку (близько 0,5 г) подрібненої рослинної сировини (d = 0,5 мм), вносили в мірну колбу ємністю 5 мл, додавали спирт метиловий 90% до позначки. Процес екстрагування проводили протягом 30 хв. на ультразвуковому нагрівачі, витримували 24 год. при t=25<sup>0</sup>С. Розчин центрифугували, фільтрували через тефлоновий мембранний фільтр (d=0,45 мкм) у пробирку для проведення аналізу. Використовували рухомі фази:

трифтороцтова кислота 0,2%; спирт метиловий; трифтороцтова кислота 0,2% – спирт метиловий 70%. Режим проведення аналізу: швидкість рухомої фази 0,25 мл/хв., тиск 240–300 кПа; температура термостата колонок ( $t=32^{\circ}\text{C}$ ). Для ідентифікації речовин та визначення їх кількісного вмісту застосовували методи стандартних добавок та внутрішньої нормалізації. Отримані результати були оброблені методом математичної статистики за програмою «Statistica 6.0 for Windows» (Stat. Soft. Inc., №AXXR712D833214FANS). Достовірність отриманих відмінностей величин, оцінювали за  $t$ -критерієм Ст'юдента ( $p>95\%$ ) [2].

### **Результати дослідження та їх обговорення**

Результати визначення складу та кількісного вмісту флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у траві та ЛЕ *Thymus vulgaris* L. представлені на рис. 1 та в табл. 1. Отримані нами результати свідчать про накопичення в траві *Thymus vulgaris* L. під час цвітіння 5 флавоноїдів та 5 гідроксикоричних кислот. Основними ідентифікованими сполуками були: апігенін-7-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид (до  $0,80\pm 0,04\%$ ); лютеолін-7-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид (до  $0,74\pm 0,04\%$ ), лютеолін (до  $0,70\pm 0,04\%$ ), розмаринова кислота (до  $0,34\pm 0,02\%$ ). Вперше ідентифіковані: еріоцитрін, кафтарова, п-кумарова та ферулова кислота.

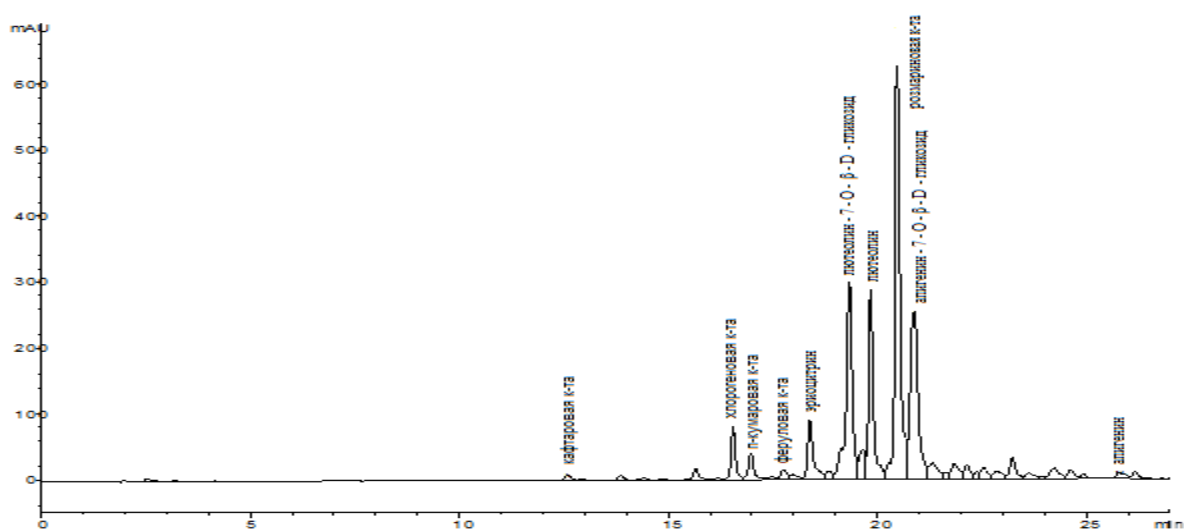


Рис. 1. Хроматограма флавоноїдів і гідроксикоричних кислот трави *Thymus vulgaris* L.

Таблиця 1

**Результати визначення вмісту флавоноїдів і гідроксикоричних кислот  
у траві та ЛЕ *Thymus vulgaris* L., ( $\bar{x} + \Delta \bar{x}$ ), n=6**

Найменування сполуки	Кількісний вміст, %		Термін утримання (хв.)	$\lambda_{\max}$ . (нм)
	трава	ЛЕ		
1. Кафтарова кислота	0,001 ± 0,0001	0,020 ± 0,001	12,75	290
2. Хлорогенова кислота	0,011 ± 0,001	0,242 ± 0,010	16,50	218; 245; 300; 326
3. п – кумарова кислота	0,004 ± 0,0003	0,212 ± 0,011	17,00	228; 310
4. Ферулова кислота	0,002 ± 0,0001	0,18 ± 0,01	17,85	235; 295; 325
5. Еріоцітрін (еріодістіол – 7 – О – β – D – рутинозид)	0,040 ± 0,002	0,200 ± 0,013	18,50	283; 325
6. Лютеолін – 7 – О – β – D – глюкопіранозид	0,74 ± 0,04	3,68 ± 0,18	19,50	255; 267 пл.; 348
7. Лютеолін	0,70 ± 0,04	0,13 ± 0,01	20,00	240 пл.; 256; 268; 292
8. Розмаринова кислота	0,31 ± 0,02	0,72 ± 0,04	20,61	245; 287 пл.; 327
9. Апігенін – 7 – О – β – D – глюкопіранозид	0,80 ± 0,04	0,20 ± 0,01	22,28	252; 312
10. Апігенін	0,011 ± 0,001	0,031 ± 0,001	26,11	267; 296 пл.; 336
Сума флавоноїдів	2,29 ± 0,11	4,24 ± 0,19		
Сума гідроксикоричних кислот	0,33 ± 0,02	1,37 ± 0,07		

Вміст компонентів у ЛЕ був суттєво більшим і складав: лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид (до  $3,68 \pm 0,18\%$ ), еріоцітрін (до  $0,200 \pm 0,013\%$ ), апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид (до  $0,20 \pm 0,01\%$ ), лютеолін (до  $0,13 \pm 0,01\%$ ), розмаринова кислота (до  $0,72 \pm 0,04\%$ ), хлорогенова кислота (до  $0,24 \pm 0,01\%$ ), п-кумарова кислота (до  $0,21 \pm 0,01\%$ ), ферулова кислота (до  $0,18 \pm 0,01\%$ ).

Досліджений якісний склад представлений поліфенольними сполуками, що є похідними флавона (апигенін, лютеолін, еріоцітрін) та їх глікозидами, які виявляють протизапальну, спазмолітичну, антиоксидантну та протимікробну активність [4, 8, 11].

Загальний вміст флавоноїдів складав до  $2,29 \pm 0,11\%$  для трави *Thymus vulgaris* L. та до  $4,24 \pm 0,19\%$  для ЛЕ. Відмічено значно менший вміст гідроксикоричних кислот ( $0,33 \pm 0,02\%$  та  $1,37 \pm 0,07\%$  відповідно).

Аналіз отриманих результатів свідчить про необхідність визначення флавоноїдів та гідроксикоричних кислот при стандартизації трави та препаратів з лікарської рослинної сировини видів роду *Thymus* L.

### **Висновки**

1. У результаті досліджень методом ВЕРХ трави та ліофільного екстракту *Thymus vulgaris* L., встановлено присутність 5 флавоноїдів та 5 гідроксикоричних кислот. З них вперше: еріоцітрін, кафтарова, п-кумарова та ферулова кислоти.

2. У найбільших концентраціях були присутні: апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид, лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид, еріоцітрін, лютеолін, розмаринова, хлорогенова, п-кумарова, ферулова кислота.

3. Здатність до накопичення у траві *Thymus vulgaris* L. поліфенольних сполук – похідних флавону, свідчить про перспективу розробки комплексних фітопрепаратів з вираженою спазмолітичною, антиоксидантною та протимікробною активністю.

## *Література*

1. Васюков В.М. Обзор тимьянов (*Thymus* L., *Lamiaceae*) Самарской области / В.М. Васюков, С.В. Саксонов // Известия Самарского научного центра РАН. – 2012. - Т. 14, № 1. – С. 64 – 68.
2. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-е вид. – Х. : Держ. п-во „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2014. – Т. 3. – 732 с.
3. Компендиум 2015 – лекарственные препараты / Под ред. В. Н. Коваленко. – К.: МОРИОН, 2015. – 1408 с.
4. Старчак Ю. А. Фармакогностическое изучение растений рода Тимьян (*Thymus* L.) как перспективного источника прлучения фитопрепаратов:: автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. фарм. наук : спец. 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» / Ю. А. Старчак. – Самара, 2016. – 47 с.
5. Фенольные соединения и антиоксидантная активность уральских представителей рода *Thymus* (*Lamiaceae*) / Л. И. Алексеева, Л. В. Тетернюк, А. Г. Быструшкин, А. Булышева // Раст. ресурсы. – 2012. № 1. – С. 110 – 118.
6. Фуклева Л. А. Изучение состава и возможность использования чабреца обыкновенного и крымского в фармацевтической практике / Л. А. Фуклева, Л. А. Пучкан. – Научные ведомости. Серия медицина, фармация. – 2013. –№ 18 (161), вып. 21. – С. 207 – 210.
7. European Pharmacopoeia. 8 edition. Volume 2. - Strasbourg, 2014. — 2133 с.
8. Hossain M.A. Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris* / M.A. Hossain, K.A. AL-Raqmi, Z.H. AL-Mijizy et al. // Asian Pac J Trop Biomed. – 2013. – 9. – P. 705–710.

9. Komaki A. Study of the Effect of Extract of *Thymus Vulgaris* on Anxiety in Male Rats / A. Komaki, F. Hoseini, S. Shahidi, N. Baharlouei // Journal of Traditional and Complementary Medicine. – 2016. – 6(3). – P. 257–261.

10. Pavel M. Essential oils of *Thymus pulegioides* and *Thymus glabrescens* from Romania: chemical composition and antimicrobial activity / M. Pavel, M. Ristic, T. Stevic // Journal of the Serbial Chemical Society. – 2010. – Vol. 75, N. 1. – P. 27 – 34.

УДК: 615.322:582.924.4,19:547.631.4

Л. А. Фуклева, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська, А. О. Остапенко, Г.В. Мазулін

### **ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ТРАВИ ТА ЛІОФІЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ THYMUS VULGARIS L.**

**Ключові слова:** високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), трава, чебрець звичайний, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти.

Методом ВЕРХ на приборі «Agilent Technologies» (хроматографічна колонка «ZORBAX–S BC–1 8») проведено дослідження складу поліфенольних сполук трави та ліофільного екстракту *Thymus vulgaris* L. та встановлено присутність 5 флавоноїдів та 5 гідроксикоричних кислот. Основними ідентифікованими сполуками були: апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид (до 0,80±0,04%); лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид (до 0,74±0,04%), лютеолін (до 0,70±0,04%), розмаринова кислота (до 0,34±0,02%). Вперше ідентифіковані: еріоцитрін, кафтарова, п-кумарова та ферулова кислоти. Склад компонентів у ліофільному екстракті був ідентичним, а кількісний вміст суттєво більшим, ніж у траві рослини. Здатність до накопичення поліфенольних сполук – похідних флавону, свідчить про перспективу розробки комплексних фітопрепаратів з вираженою спазмолітичною, антиоксидантною та протимікробною активністю.



УДК: 615.322:582.924.4,19:547.631.4

Л. А. Фуклева, А. В. Мазулин, Г. П. Смойловская, А. А. Остапенко,  
Г.В. Мазулін

## **ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ТРАВЫ И ЛИОФИЛЬНОГО ЭКСТРАКТА THYMUS VULGARIS L.**

**Ключевые слова:** высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), трава, тимьян обыкновенный, флавоноиды, гидроксикоричные кислоты.

Методом ВЭЖХ на приборе «Agilent Technologies» (хроматографическая колонка «ZORBAX-S BC-1 8») проведено исследование состава полифенольных соединений травы и лиофильного экстракта *Thymus vulgaris* L. и установлено присутствие 5 флавоноидов и 5 гидроксикоричных кислот. Основными идентифицированными соединениями были: апигенин-7-О-β-D-глюкопиранозид (до  $0,80 \pm 0,04\%$ ); лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид (до  $0,74 \pm 0,04\%$ ), лютеолин (до  $0,70 \pm 0,04\%$ ), розмариновая кислота (до  $0,34 \pm 0,02\%$ ). Впервые идентифицированы: эриоцитрин, кафтарова, п-кумаровая и феруловая кислоты. Состав компонентов в лиофильном экстракте был идентичным, а количественное содержание существенно больше, чем в траве растения. Способность к накоплению полифенольных соединений - производных флавонона, свидетельствует о перспективе разработки комплексных фитопрепаратов с выраженной спазмолитической, антиоксидантной и противомикробной активностью.

UDC: 615. 322:582.924.4,19:547.631.4

L. A. Fukleva, O.V. Mazulin, G. P. Smoylovska, A. A. Ostapenko, G.V. Mazulin

**STUDY OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN HERB AND LYOPHILIC EXTRACT FROM THYMUS VULGARIS.L.**

**Key words:** high-performance liquid chromatography (HPLC), herb, *Thymus vulgaris*, flavonoids, hydrocinnamomic acids.

The study of polyphenolic compounds in herb and lyophilic extract from *Thymus vulgaris* has been carried out by HPLC method using apparatus “Agilent Technologies” (chromatographic column “ZORBAX-S-BC-1.8”); it has been established, that 5 flavonoids and 5 hydroxycinnamomic acids were presented. The main compounds identified were: apigenin-7-O-b-D-glucopyranozid (to  $0.80\pm 0.04\%$ ), luteolin (to 7-O-B-D- glucopyranozid (to  $0.74\pm 0.04\%$ ), rosemalic acid (to  $0.34\pm 0.02$ ). Eryocitrin, acids caftaric, n-cumaric and ferulic have been identified for the first time. Components in lyophilic extract were the same, but their number was more significant than in herb. Capacity to accumulate polyphenolic compounds originated from flavone indicates promising prospects for obtaining complex plant-based medicines with pronounced spasmolytic, anti-oxidant and antibacterial effect.

## **Відомості про авторів**

**Фуклева Лариса Анатоліївна**, кафедра фармакогнозії, фармхімії і технології ліків факультету післядипломної освіти Запорізького державного медичного університету, асистент, к. фарм. н.

**Мазулін Олександр Владиленович**, кафедра фармакогнозії, фармхімії і технології ліків факультету післядипломної освіти Запорізького державного медичного університету, завідувач кафедри, д. фарм. н., професор.

**Смойловська Галина Павлівна**, кафедра фармакогнозії, фармхімії і технології ліків факультету післядипломної освіти Запорізького державного медичного університету, доцент, к. фарм. н.

**Остапенко Андрій Вікторович**, кафедра каф. лабораторної діагностики та загальної патології ДЗ Запорізької медичної академії післядипломної освіти, ст. викладач, к. фарм. н.

**Мазулін Георгій Владиленович**, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету, асистент, канд. фарм. н.

### **Адреса для листування:**

Фуклева Л. А. 69035, м. Запоріжжя, вул. Сталеварів 36-А, к 7, 0667897388

E-mail: fukleva@ukr.net