# ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ И ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НАДЗЕМНЫХ ЧАСТЕЙ ТИМЬЯНА МАРОККАНСКОГО И ТИМЬЯНА МАРШАЛЛА

И. М. Коренская, И. Е. Измалкова, А. И. Сливкин, А. В. Фалалеев, Мальцева А. А.

Воронежский государственный университет Поступила в редакцию 24.03.2016 г.

Аннотация. При исследовании подлинности надземных частей двух видов тимьяна выявлены некоторые различия во внешних и анатомо-диагностических признаках. У тимьяна марокканского более ярко выражен характерный запах, отмечено в два раза больше наличие округлых эфиромасличных желез. Хромато-масс-спектрометрией проведен компонентный анализ эфирных масел, полученных методом 1. В эфирном масле из травы тимьяна марокканского вместе с тимолом доминировал карвакрол, тогда как в масле из травы тимьяна Маршалла - терпенил ацетат.

**Ключевые слова:** тимьян марокканский, тимьян Маршалла, фармакогностический анализ, подлинность, хромато-масс-спектрометрия, эфирное масло, компонентный состав.

**Abstract.** The study of the authenticity of the aerial parts of the herb of Thyme revealed some differences in the external and anatomic diagnostic features. The Moroccan thyme appeared to have a more pronounced characteristic odor and twice larger quantity of rounded essential oil glands. Chromatographic mass spectrometry was used to carry out a component analysis of the essential oils obtained by the method 1 (method of Ginsberg). In the essential oil of the Moroccan herb of thyme carvacrol dominated together with thymol, whereas in the oil of the Marshall herb of thyme it was terpinyl acetate that dominated with thymol.

**Keywords:** Thymus satureioides Coss., Thymus marschallianus Willd., pharmacognostic qualitative analysis, authenticity, chromatographic mass spectrometry, essential oil, component composition.

Одной из актуальных проблем современной фармации является выявление новых видов лекарственных растений, возможность использования их при производстве фитопрепаратов, наравне с фармакопейными видами лекарственного растительного сырья (ЛРС). В научной медицине нашли значительное применение эфиромасличные растения. Среди них большой интерес представляют растения семейства Яснотковых, рода Тимьян, в состав эфирного масла которых входит тимол, карвакрол, цимол, борнеол, гераниол и другие ароматические и терпеноидные соединения [1]. Эти вещества определяют широкий спектр фармакологического действия эфирных масел. Их применяют для лечения заболеваний дыхательных путей, неврозов и почечно-камен-

Род *Тhymus* L. (тимьян, чабрец) характеризуется значительным количеством морфологически дифференцированных, приуроченных к определенным экологическим условиям и обладающих вполне очерченными ареалами видов [2]. Большой интерес представляет сравнение надземной части двух видов тимьяна, произрастающих в различных климатических условиях, по критериям подлинности и доброкачественности.

**Цель исследования** - проведение сравнительного фармакогностического изучения тимьяна марокканского, произрастающего в Марокко, и тимьяна Маршалла, произрастающего в Российской Федерации в Воронежской области.

ной болезни, так как эфирные масла, входящие в их состав, оказывают противовоспалительный, антибактериальный, фунгицидный, потогонный, спазмолитический и мочегонный эффекты.

<sup>©</sup> Коренская И. М., Измалкова И. Е., Сливкин А. И., Фалалеев А. В., Мальцева А. А., 2016

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами нашего исследования являются: *Thymus satureioides* Coss. – тимьян марокканский и *Thymus marschallianus* WILLD. – тимьян Маршалла, который также имеет другие названия: тимьян маршаллиевский, тимьян ложнопаннонский, тимьян степной и др. Тимьян марокканский относится к эндемикам Марокко и произрастает в долинах, вдоль Атласских гор. Тимьян Маршалла произрастает по степям, опушкам широколиственных лесов, склонам холмов, каменистым обнажениям в Восточной Европе, на Кавказе [3].

Сырье заготавливалось в обоих случаях в начале цветения, сушили воздушно-теневым способом. Сбор надземной части тимьяна марокканского проводился в марте 2014г, в период массового цветения в долине Атласских гор, тимьяна Маршалла — в июне-июле 2014г на юге Воронежской области в Лискинском районе.

Анализ подлинности исследуемого сырья проводили общепринятыми методами, указанными в нормативной документации [4]. Газохроматографический анализ проводили на комплексе хромато-масс-спекрометрическом Agilent Technologies 7890B GC System c массселективным детектором Agilent Technologies 5977A MSD. Температура узла ввода пробы – 280 °C, аналитического интерфейса — 150/230 °C. Разделение проводили на капиллярной колонке HP-5ms UI с неподвижной фазой (5% фенил)метилполисилоксан (30м х 0.250мм х 0.25 дм). Скорость потока газа носителя - 1 мл/мин, при постоянном потоке. Объем вводимой пробы – 1 мкл, деление потока 20:1, давление – 0,65 бар; температурный режим: 80 °C – изотерма,18 мин, нагрев 5 °С/мин, до 220 °С, затем нагрев со скоростью 40 °С/мин до 300 °С, изотерма -2 минуты. Регистрацию сигнала проводили по полному ионному току (ТІС) в диапазоне масс 20-550 m/z.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При сравнении внешних признаков изучаемых объектов отмечено, что сырье обоих видов тимьяна имеет тонкие, четырехгранные стебли диаметром до 5 мм. Однако форма и размеры листьев различаются: у тимьяна марокканского листья округло-сердцевидной формы, длиной 10-13 мм, шириной 9 -13 мм, короткочерешковые, плотные, блестящие, у основания короткоопушенные, в то время как листья тимьяна Маршалла удлиненно овальной, почти ланцетной формы, длиной 8-18

мм, шириной 3-6 мм. Цветки у тимьяна марокканского бледно-розового цвета, у тимьяна Маршалла — фиолетово-розового цвета. Запах сырья тимьяна марокканского более сильный, резко ароматный, с характерными тимоловыми нотками. Вкус сладковато-жгучий, ярко выраженный. Запах травы тимьяна Маршала - мягкий, ароматный.

Проведенные микроскопические исследования показали, что листья двух видов тимьяна имеют общие признаки, характерные для всего семейства Lamiaceae: клетки верхнего эпидермиса многоугольной формы, клетки нижнего — слабоизвилистые, устьичный аппарат — диацитного типа, присутствуют округлые эфиромасличные железки с 8 выделительными клетками, расположенными радиально, головчатые волоски — одноклеточная ножка и одноклеточная головка, встречаются простые многоклеточные волоски. Однако при сравнительном микроскопическом анализе, выявлены диагностические признаки, характеризующие особенности каждого вида, представленные на рисунках 1-3.

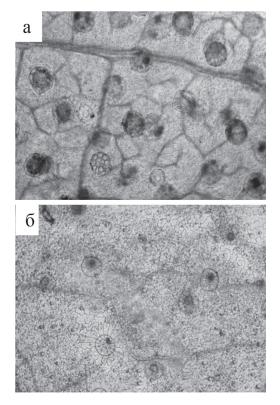




 $Puc.\ I.$  Край листовой пластинки тимьяна марокканского (а) и тимьяна Маршалла (б) (х100).

При микроскопировании отмечено, что край листа у тимьяна марокканского слегка извилистый, редко встречаются одно-двухклеточные волоски, расположенные на некотором расстоянии друг от друга, в то время как край листа тимьяна Маршала имеет по всему краю листа близко расположенные сосочковидные волоски. Визуализировано, что содержание эфиромасличных железок в листьях тимьяна марокканского почти в два раза больше, чем у тимьяна Маршалла. Так, в поле зрения окуляра, у

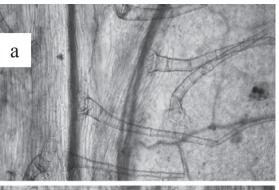
тимьяна марокканского было определено в среднем 33 эфиромасличные железки, тогда как у тимьяна Маршалла — 16. С помощью линейки-микрометра, цена 1 деления которой при увеличении в 400 раз ровняется 2.33 мкм, рассчитан диаметр эфиромасличных железок. У тимьяна марокканского диаметр железок равен 18.90±0.02 мкм, а у тимьяна Маршалла — 13.05±0.02 мкм, что на 30 % меньше, чем у тимьяна из Марокко; у тимьяна марокканского вдоль жилок обнаружены многочисленные многоклеточные волоски (от 3 до 7 клеток), в то время, как у тимьяна Маршалла многоклеточные волоски почти не встречаются, но вся поверхность листа имеет сосочковидные выросты эпидермиса.



 $Puc.\ 2.\$ Эфиромасличные железки на поверхности листовой пластинки тимьяна марокканского (а) и тимьяна Маршалла (б) (х100).

Из сырья исследуемых видов тимьянов методом 1 было получено эфирное масло. Эфирное масло из травы тимьяна марокканского представляло собой прозрачную жидкость желто-оранжевого цвета, тогда как из тимьяна Маршалла масло было светло-желтого цвета и характеризовалось большей подвижностью.

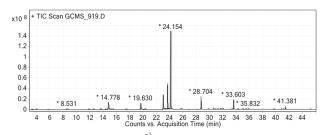
В результате количественного определения эфирного масла отмечено, что содержание эфирного масла в траве тимьяна марокканского составляло  $0.92\pm0.05$  %, а в траве тимьяна Маршалла –  $1.08\pm0.01$  %.





*Puc. 3.* Трихомы эпидермиса нижней поверхности листовой пластинки тимьяна марокканского (а) и тимьяна Маршалла (б) (х100).

Полученные образцы эфирных масел были проанализированы на хромато-масс-спектрометрическом комплексе Agilent Technologies для определения компонентного состава. Результаты XMC исследований представлены на рисунке 4 и в таблице 1.



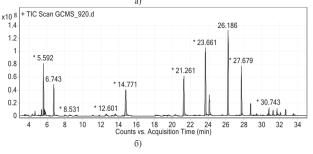
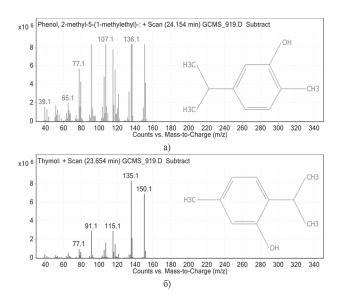


Рис. 4. Интегрированные сканированные хроматограммы эфирного масла из травы тимьяна марокканского (а) и эфирного масла из травы тимьяна Маршалла (б)

Таблица 1 Содержание некоторых компонентов эфирных масел, полученных из травы тимьяна марокканского и тимьяна Маршалла

№	Время удержания	Наименование компонента	Брутто- формула	Массовая доля в образце (от общей суммы), %	
				тимьян марокканский (всего -39)	тимьян Маршалла (всего -53)
1	4.64	β-Pinene	C10H16	-	0.75
2	5.59	o-Cymol	C10H14	-	9.62
3	5.73	Limonene	C10H16	-	1.27
4	5.81	p-Cineole	C10H18O	-	0.81
5	6.74	γ-Terpinene	C10H16	-	6.02
6	8.53	β-Linalool	C10H18O	0.57	0.30
7	14.78	α-Terpineol	C10H18O	5.78	9.1
8	19.63	Pulegone	C10H16O	5.12	
9	21.26	Geraniol	C10H18O	-	11.33
10	22.99	Anethole	C10H12O	8.25	-
11	23.65	Thymol	C10H14O	12.06	16.53
12	24.15	Carvacrol	C10H14O	51.44	4.84
13	26.18	α-Terpinyl acetate	C12H20O2	-	16.38
14	27.67	Geranyl acetate	C12H20O2	-	7.93
15	28.70	Caryophyllene	C15H24	4.26	1.91
16	30.64	α-Curcumene	C15H24	0.43	1.20
17	31.65	β-Bisabolene	C15H24	0.38	1.01
18	31.75	δ-Cadinene	C15H24	0.26	0.33



*Puc. 5.* Масс-спектры доминирующих компонентов в эфирном масле из травы тимьяна марок-канского: а) карвакрола, б) тимола

При сравнительном анализе изучаемых эфирных масел отмечено, что в эфирном масле из травы тимьяна Маршалла содержится 53 компонента, в то время как в эфирном масле из травы тимьяна марокканского содержится 39 компонентов (табл. 2). Большинство соединений в обоих образцах представлено преимущественно монотерпеноидами. Ароматические соединения, тем не менее, являются доминирующими компонен-

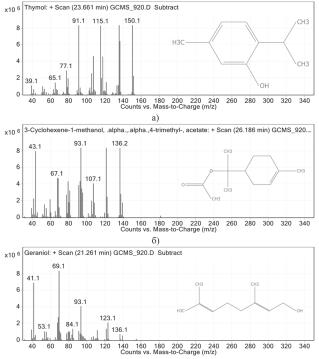


Рис. 6. Масс-спектры доминирующих компонентов в эфирном масле из травы тимьяна Маршалла: а) тимола, б) терпинил ацетата, в) гераниола

тами: в эфирном масле тимьяна марокканского содержится тимол и карвакрол (12,06 % и 51,44 % соответственно), в эфирном масле тимьяна Мар-

шалла — тимол и цимол (16,53 % и 9,62 % соответственно), карвакрола определено всего 4 %.

Надземную часть тимьяна Маршалла по доминирующим компонентам эфирного масла можно отнести к тимол-терпенил ацетат-гераниольному типу (рис. 6).

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

- 1. Сравнительное фармакогностическое изучение надземной части тимьяна марокканского и тимьяна Маршала показало, что данные виды характеризуются характерными внешними и анатомо-диагностическими особенностями.
- 2. С помощью хромато-масс-спектрометрии определен компонентный состав исследуемых эфирных масел, полученных методом дистилляции с водяным паром, и выявлены различия по качественному и количественному компонентному составу.

Воронежский государственный университет Коренская И. М., к.фарм.н., доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии

Тел.: (473) 253-04-28 E-mail: kim@pharm.vsu.ru,

Измалкова И. Е., ассистент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии

Тел.: (473) 253-04-28

E-mail: izmalkova@pharm.vsu.ru

Сливкин А. И., д.фарм.н., проф., заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии

Тел.: (473) 253-04-28

E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Фалалеев А. В., к. х. н., старший научный сотрудник

E-mail: noodls@live.com

Мальцева А. А., доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии

Тел.: (473) 253-04-28

E-mail: alinevoroneg@mail.ru

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Ткаченко К.Г. Эфиромасличные растения и эфирные масла: перспективы, современные тенденции изучения / К.Г. Ткаченко // Вестник Удмуртского университета, 2011. № 6. С. 88-93.
- 2. Гогина Е.Е Изменчивость и формообразование в роде Thymus L.: дис. Докт. Биол. наук / Е.Е. Гогина. Москва, 1983. 482 с.
- 3. Кулакова Ю.Ю. Ботанико-ресурсоведческая характеристика рода Thymus L. на территории Нижнего Поволжья: дис. Канд. Биол. наук / Ю.Ю. Кулакова. Москва, 2011. 180 с.
- 4. www. femb.ru/feml Государственная Фармакопея РФ XIII изд. Т. 2. М. : Медицина,  $2015.-1004~\rm c.$
- 5. Чакраборти А. Противомикробная композиция, содержащая тимол и терпениол, и ее применение / А. Чакраборти, С. Медепалли. Евразийский Патент В1 019846. Номер заявки: 201100656. Дата выдачи патента: 30.06.2014. 12 с.

Voronezh State University

Korenskaya I. M., associate professor of the Department of Management and economics of pharmacy and pharmacognosy

Ph.: (473) 253-04-28

E-mail: kim@pharm.vsu.ru

Izmalkova I. E., assistant of the Department of Management and economics of pharmacy and pharmacognosy

Ph.: (473) 253-04-28

E-mail: izmalkova@pharm.vsu.ru

Slivkin A. I., professor, manager of the Department of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology

Ph.: (473) 253-04-28

E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Falaleev A. V., Ph.D., Senior Researcher,

E-mail: noodls@live.com

Malzeva A. A., associate professor of the Department of Management and economics of pharmacy and pharmacognosy

Ph.: (473) 253-04-28

E-mail: alinevoroneg@mail.ru