

УДК 5547.56 : 547.972.2

## ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ *THYMUS TALIJEVII* KLOK. ET SCHOST.

© Л.И. Алексеева\*, Л.В. Тетерюк

Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, ул. Коммунистическая,  
28, 167610, Сыктывкар (Россия) E-mail: alexeeva@ib.komisc.ru

Приведены данные о химическом составе растений тимьяна Талиева (*Thymus talijevii* Klok. et Schost). В растении содержатся фенольные соединения, в частности тимол, карвакрол, лютеолин, апигенин, кофейная и галловая кислоты.

*Ключевые слова:* *Thymus talijevii*, фенольные соединения, тимол, карвакрол, лютеолин, апигенин, кофейная кислота, галловая кислота, ВЭЖХ.

### Введение

В настоящее время в медицинской практике все большее значение придается лекарственным средствам растительного происхождения. Внимание исследователей давно привлекают представители рода *Thymus* (тимьян) сем. Lamiaceae, у которых выявлены антимикробная, противовоспалительная [1], антиоксидантная [2, 3], цитотоксическая [4], антигельминтная [5], спазмолитическая [6] виды активности. Установлено, что биологическая активность тимьянов связана прежде всего с присутствием в них фенольных соединений. Так, антимикробная, противовоспалительная, антигельминтная и антиоксидантная активности обусловлены высоким содержанием карвакрола и тимола [5, 7, 8]. Флавоны апигенин и лютеолин, характерные для многих растений рода *Thymus* [9, 10], также имеют противовоспалительную [1] и антиоксидантную активность [2]. Кофейная и галловая кислоты, содержащиеся в *Thymus vulgaris* L. и *T. serpyllum* L., являются одними из наиболее сильных антиоксидантов среди всех фенолкарбоновых кислот [3, 8, 11], обладают антимикробной активностью [11]. Результаты многолетних исследований химического состава тимьянов обобщены в обзоре «Thyme: The genus *Thymus*» [12]. Большой интерес представляют исследования тимьянов с небольшими ареалами, и в частности, эндемичных. В случае угрозы исчезновения таких видов их биологически активные вещества могут быть утеряны навсегда [13]. На территории Республики Коми встречается один из представителей рода – *T. talijevii* Klok. et Schost. (тимьян Талиева), который использовался населением как отхаркивающее и противовоспалительное средство. Это многолетний полукустарничек, который встречается на Урале, в лесной зоне европейского северо-востока России на скалистых известняковых и гипсовых, реже – мергелистых склонах речных берегов, входит в состав реликтового скального флористического комплекса [14]. Вид внесен в списки охраняемых растений Республики Коми [15], Архангельской области, Среднего Урала [16], нуждается в биологическом надзоре на территории Пермской области. Химический состав и биологическая активность соединений этого вида до сих пор оставались неизвестными. Целью данной работы было изучение фенольного состава *T. talijevii*, оценка количественного содержания в нем наиболее важных биологически активных веществ, сравнение химического состава с широко применяемым в отечественной фармакологии *T. serpyllum* и с другими представителями рода.

### Экспериментальная часть

Отбор проб растительного сырья провели в природных популяциях *T. talijevii* (окр. пос. Нижняя Омра, Троицко-Печорский р-он Республики Коми) во второй декаде июля 2006 г. Растения *T. talijevii* произрастали

---

\* Автор, с которым следует вести переписку.

на выходах известняков карбона по р. Сойва (приток второго порядка р. Печора), на слабозакрепленных осыпных склонах различной экспозиции. Для того чтобы ограничить ущерб популяциям этого редкого и охраняемого вида, для анализа использовали только надземную часть ограниченного числа растений. Для сравнения химического состава отбирали образцы растений *T. serpyllum*, интродуцированных в окр. г. Сыктывкара. Неповрежденную надземную часть цветущих особей высушивали до сухого состояния при комнатной температуре и измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Навески 1 г экстрагировали 100 мл 96% метанола в круглодонной колбе при нагревании с обратным холодильником на водяной бане 1 ч. После охлаждения экстракт фильтровали.

Суммарное содержание флавоноидов в экстрактах растений *T. talijevii* и *T. serpyllum* определяли спектрофотометрическим методом по реакции комплексообразования с хлоридом алюминия [17]. К 0,5 мл экстракта добавляли 4,4 мл метанола и 0,1 мл 10% раствора хлорида алюминия в метаноле. В качестве раствора сравнения использовали раствор 4,9 мл метанола и 0,1 мл 10% раствора хлорида алюминия в метаноле. Через 30 мин проводили измерение оптической плотности растворов на фотоэлектрическом фотометре КФК-3 при длине волны 415 нм. Для калибровочной кривой использовали кверцетин в концентрации 12,5–100 мкг/мл метанола.

Обращенно-фазовую ВЭЖХ осуществляли с использованием насоса НРР 4001 (ЧСРФ), детектора UV-VIS LCD 2536 (ЧСРФ) и колонки Диасорб-130-С<sub>16</sub>T, 7 мкм (250 x 4.6 мм) («БиоХимМак», Россия). ВЭЖХ тимола и карвакрола в экстрактах *T. talijevii* и *T. serpyllum* осуществляли с использованием элюента метанол – вода (62 : 38, по объему) при скорости элюирования 1,0 мл/мин; детектирование проводили при длине волны 277 нм. ВЭЖХ флавоноидов осуществляли с использованием элюента вода – ацетонитрил (70 : 30, по объему) при скорости элюирования 0,7 мл/мин; детектирование проводили при длине волны 336 нм. ВЭЖХ фенолкарбоновых кислот осуществляли с использованием элюента вода – ацетонитрил – фосфорная кислота (80 : 20 : 0,05, по объему) при скорости элюирования 0,7 мл/мин; детектирование проводили при длине волны  $\lambda=250$  нм. Вещества идентифицировали, сравнивая  $t_R$  (время удерживания) с  $t_R$  стандартных образцов. Количество рассчитывали методом абсолютной градуировки.

### Результаты и обсуждение

Химический состав *T. talijevii* ранее не изучался. Анализ химического состава *T. talijevii* проводили в сравнении с одним из наиболее распространенных и используемых в официальной медицине видом тимьянов – *T. serpyllum*. Поскольку известно, что количественный состав фенольных соединений зависит от множества факторов [18], для сравнения были взяты растения из интродуцированных популяций *T. serpyllum*, которые развивались в сходных климатических условиях с исследуемым видом.

В растении *T. talijevii* методом ВЭЖХ показано наличие тимола ( $t_R$  12,7 мин) и карвакрола ( $t_R$  11,0 мин). Кроме этих соединений в *T. talijevii* присутствуют еще 2 производных фенола с  $t_R$  13,8 и 14,9 мин, не характерных для интродуцированных растений *T. serpyllum*. Количественное содержание веществ представлено в таблице. Для рода *Thymus* характерен значительный полиморфизм состава эфирных масел, за биологическую активность которых преимущественно отвечают тимол и карвакрол. Их содержание изменяется в зависимости от вида и условий произрастания (табл.). Например, среди видов, широко применяемых в фармакологии, максимальное содержание тимола выявлено для растений *T. vulgaris*, произрастающих в Турции [20]. Однако для этих растений выявлено отсутствие карвакрола. Содержания этих веществ существенно различаются по содержанию в популяциях *T. serpyllum* L. s. l., произрастающих в различных районах Алтайского края и Республики Алтай. Максимальное значение тимола здесь достигает 0,616 мг/г, а карвакрола – 2,960 мг/г. В литературе имеются данные, что низкий уровень тимола и отсутствие карвакрола приводит к потере некоторыми видами, например *T. bracteosus* Vis. Benth., антиоксидантных свойств [23]. Полученные нами данные показали, что в растении *T. talijevii* содержание тимола и карвакрола выше, чем в растении *T. serpyllum*, интродуцированном на территории Республики Коми, но в пределах содержания в растениях, собранных в районах Алтая (см. табл.). Таким образом, полученные результаты являются основанием для дальнейшего изучения антиоксидантной и антимикробной активности *T. talijevii*.

Химический состав растений *Thymus talijevii* Klok. et Schost., *Thymus serpyllum* L. и *Thymus vulgaris* L.

Вещество	Количественное содержание, мг/г						
	<i>Thymus talijevii</i> Klok. et Schost.	<i>Thymus serpyllum</i> L.			<i>Thymus vulgaris</i> L.		
	Республика Коми	Республика Коми	Алтай [19]	Хорватия [3]	Турция [20]	Хорватия [3, 21]	Китай [22]
Тимол	0,300	0,048	0,045–0,616	–	7,25	1,47–4,20	–
Карвакрол	0,080	0	0–2,960	–	0	0,61–0,70	–
Флавоноиды	14,8	14,8	–	15	–	31	–
Лютеолин	0,366	0,164	–	0,41	–	0,25	–
Апигенина	0,566	0,184	–	0,05	–	0,44	–
Галловая кислота	0,498	0,925	–	–	–	–	0,375
Кофейная кислота	0,024	0,024	–	0,02	–	0,03	0,548

Флавоноиды – класс биологически активных веществ, присутствующих в растениях рода *Thymus*. Имеющиеся в литературе данные для других видов рода также указывают на различное содержания этих веществ. Так, для *T. marchallianus* Will. показано содержание флавоноидов 5,6–12,8 мг/г [24], *T. longidens Velen. var. lanicaulis* Ronn. – 2,7 мг/г, *T. tosevii Velen. subsp. tosevii var. degenii* (H.Br.) Ronn. – 7,2 мг/г [25], значительное содержание флавоноидов выявлено в *T. vulgaris* (31 мг/г) [3], *T. jankae Chel.* (21,2 мг/г), *T. longidens Velen. var. dassareticus* Ronn. (23,2 мг/г), *T. moesiacus Velen.* (21,5 мг/г) [25]. В проанализированных пробах *T. talijevii* содержание флавоноидов достаточно высокое для рода и соответствует содержанию этих веществ в растениях *T. serpyllum*, интродуцированных и природных (алтайских) (табл.). Надо отметить, что на территории России содержание флавоноидов в растениях рода *Thymus* (включая широко используемые в официальной медицине *T. serpyllum* и *T. vulgaris*) мало изучено.

Наряду с определением суммарного содержания важно установление индивидуальных флавоноидов, имеющих биологическую активность. В растении *T. talijevii* методом ВЭЖХ показано наличие лютеолина ( $t_R$  7,5 мин) и апигенина ( $t_R$  12,2 мин). Кроме этих соединений в *T. talijevii* присутствует 7 флавоноидов, 2 из которых не характерны для *T. serpyllum*. Показано более высокое (или примерно соответствующее) содержание лютеолина и апигенина в изучаемом виде по сравнению с интродуцированным в Республике Коми *T. serpyllum*, а также природными популяциями *T. serpyllum* и *T. vulgaris* [3] (табл.) и другими видами, например, *T. zheguliensis* Klok. et Schost. (лютеолина 0,2 мг/г и апигенина 0,1 мг/г) [26]. Дальнейшее изучение в растениях *T. talijevii* содержания состава флавоноидов, имеющих биологическую активность, может представлять интерес также для изучения систематики тимьянов, поскольку именно флавоноиды используются в хемотаксономии рода [27].

В растении методом ВЭЖХ *T. talijevii* показано наличие галловой ( $t_R$  4,2 мин) и кофейной кислот ( $t_R$  7,4 мин). Кроме этих соединений в *T. talijevii* присутствует еще 7 фенолкарбоновых кислот, однако именно кофейная и галловая кислоты отвечают за антиоксидантную и антимикробную активность растений. Сравнение с результатами других исследований показало, что в растениях *T. talijevii* содержание кофейной кислоты примерно соответствует содержанию в интродуцированных и природных популяциях *T. serpyllum* (табл.) и ниже, чем в природных популяциях *T. vulgaris* (незначительно – для хорватских популяций [3, 21], и почти в 20 раз меньше, чем в китайских [22]). Содержание галловой кислоты в растениях *T. talijevii* немного превышает данные для китайских природных популяций *T. vulgaris* (табл.).

### Заключение

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить качественный и количественный химический состав редкого эндемичного вида Урала и Европейского Северо-Востока России *T. talijevii*. Полученные данные показали, что этот вид может представлять интерес в качестве лекарственного сырья. Показано, что в растениях *T. talijevii* в сравнении с другими видами достаточно высоко содержание основных биологически активных веществ, характерных для рода *Thymus*: тимола, карвакрола, лютеолина, апигенина, галловой и кофейной кислот. Кроме того, показано, что в *T. talijevii* содержится ряд неидентифицированных соединений, не характерных для растений *T. serpyllum*. С целью поиска новых биологически активных веществ желательным будет дальнейшее изучение химического состава растения *T. talijevii*. С учетом того,

что этот эндемичный вид внесен в списки охраняемых растений, заготовка его в качестве лекарственного сырья в природных условиях категорически запрещена. Необходимо продолжить исследовательскую работу в направлении интродукции *T. talijevii*, изучение изменения качественного и количественного состава фенольных соединений в культуре, определение активности биологических соединений.

### Список литературы

1. Ismaili H., Sosa S., Brkic D. et al. Topical anti-inflammatory activity of extracts and compounds from *Thymus broussonettii* // J. Pharmacy Pharmacology. 2002. V. 54. №8. P. 137–140.
2. Miura K., Kikuzaki H., Nakatani N. Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method // J. Agric Food Chem. 2002. V. 50. №7. P. 1845–1851.
3. Kulisic T., Dragovic-Uzelac V., Milos M. Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from Oregano, *Thyme* and Wild *Thyme* // Food Technol. Biotechnol. 2006. V. 44. №4. P. 485–492.
4. Wang M., Kikuzaki H., Lin C.-C. et al. Acetophenone glycosides from *thyme* (*Thymus vulgaris* L.) // J. Agr. Food Chem. 1999. V. 47. №5. P. 1911–1914.
5. Korayem M., Hasabo S., Ameen H. Effects and mode of action of some plant extracts on certain plant parasitic nematodes // J. Pest. Science. 1999. V. 66. №2. P. 32–36.
6. Broucke C.O., Lemli J.A. Spasmolytic activity of the flavonoids from *Thymus vulgaris* // Pharmacy World Science. 1983. V. 5. №1. P. 9–14.
7. Couladis M., Tzakou O., Kujundzic S., Sokovic M., Mimica N. Chemical analysis and antifungal activity of *Thymus striatus* // Phytother. Research. 2004. V. 18. №1. P. 40–42.
8. Kahkonen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J. et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic // J. Agric. Food Chem. 1999. №47. P. 3954–3962.
9. Czygan F.C., Hänsel R.J. Thymian und Quendel – *Thymus*-Arten (Common *Thyme* and Wild *Thyme* (Brotherwort) - *Thyme* species). // Z. Phytother. 1993. V. 14. №2. P. 104–110.
10. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства *Hippuridaceae* – *Lobeliaceae*. СПб., 1991. С. 100–109.
11. Rauha J.-P. The search for biological activity in Finnish plant extracts containing phenolic compounds. Helsinki: University of Helsinki, 2001. P. 72.
12. *Thyme: The genus Thymus* / eds. Stahl-Biskup E., Saez F. London, New York: Taylor, Francis, 2002.
13. Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H.A. et al. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius* // Food Control. 2004. №15. P. 627–634.
14. Юдин Ю.П. Реликтовая флора известняков северо-востока европейской части СССР // Материалы по истории флоры и растительности СССР. М., Л., 1963. Вып. 4. С. 493–571.
15. Красная книга Республики Коми. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и животных. М., 1998. 528 с.
16. Красная книга Среднего Урала. Екатеринбург, 1996. 278 с.
17. Chang C., Yang M., Wen H., Chern J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods // J. Food Drug Analysis. 2002. №10. P. 178–182.
18. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов // Пер. с англ. М., 1986. 422 с.
19. Банаева Ю.А., Покровский Л.М., Ткачев А.В. Исследование химического состава эфирного масла представителей рода *Thymus* L., произрастающих на Алтае // Химия растительного сырья. 1999. №3. С. 41–48.
20. Özcan M., Chalchat J.-C. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey // Bulg. J. plant physiol. 2004. V. 30. №3–4. P. 68–73.
21. Jukic M., Milos M. Catalytic oxidation and antioxidant properties of *Thyme* essential oils (*Thymus vulgaris* L.) // Croatica Chemica Acta CCACAA. 2005. V. 78. №1. P. 105–110.
22. Shan B., Cai Y.Z., Sun M., Corke H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents // J. Agric. Food Chem. 2005. V. 53. P. 7749–7759.
23. Brantner A.H., Pfeifhofer H.W., Ercegovac O., Males Z., Plazibat M. Essential oil composition and antioxidant activity of *Thymus bracteosus* Vis. ex Benth. // Flavour and Fragrance Journal. 2005. V. 20. №6. P. 596–600.
24. Тихонов В.Н. Фенольные соединения тимьяна Маршаллов (*Thymus marshallianus* Will.), произрастающего на территории Сибири // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: мат. II Всерос. конф. 2005. Кн. 2. С. 350–353.
25. Kulevanova S., Panovska T.K. Inhibition of thermal autooxidation of lard by antioxidative action of *Thymus* extracts // Acta Pharm. 2002. №52. P. 29–35.
26. Kurkin V.A., Zapesochnaya G.G., Krivenchuk P.E., Plaksina I.T. Flavones and rosmarinic acid of *Thymus zheguliensis* // Chemistry Natural Compounds. 1989. V. 24. №4. P. 508–509.
27. Vila R. Flavonoids and further polyphenols in the genus *Thymus* // *Thyme: The genus Thymus* / eds. Stahl-Biskup E., Saez F. London: New York, 2002. P. 144–167.

Поступило в редакцию 10 января 2008 г.

После переработки 4 февраля 2008 г.