

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ВОДНО-СПИРТОВОГО ЭКСТРАКТА ЧАБРЕЦА ОБЫКНОВЕННОГО (THYMUS SERPYLLUM)

Аннотация

Проведено исследование эфирного масла и фенольных компонентов водно-спиртовой настойки надземной части чабреца обыкновенного (собранного в горах Тушети, Восточная Грузия). В эфирном масле доминирующим компонентом выявлен α -пинен. Из фенольной фракции идентифицированы биологически активные вещества: изофлавоно-формонетин и цинарозид (глюкопиранозид лутеолина). Определенные компоненты являются важными для целевого продукта, как органолептической стороны, так и лечебно-профилактической точки зрения.

Annotation

Ether oil and phenolic components of water-ethanol solvent of upper part of thymus serpyllum (collected in the mountains of Tusheti, east Georgia) was studied. The dominant component of ether oil was α -pinene. Among the phenolic fractions the following biologically active substances were identified: isoflavone-formononetin and cynaroside-glucopyranoside luteolin. Defined components are important for target product as organoleptically, as well as for treatment-prophylactic value.

Ключевые слова: α -пинен, формонетин, цинарозид

В настоящее время большое внимание уделяется использованию природных соединений. Благодаря их биологической активности и органолептическим свойствам, они являются важными компонентами целевого продукта для формирования органолептических и др. качественных показателей. С этой точки зрения заслуживает внимание ароматообразующие компоненты, фенольные вещества и др. Известно разное растительное сырье, богатое отдельными классами природных соединений, которые широко используются в пищевой промышленности. Например, использование эфирного масла в пищевой промышленности. Среди природных соединений интересными являются фенольные вещества, которые представлены в виде флавонолов, катехинов, проантоцианидинов, антоцианов, стильбенов, фенолькарбоновых кислот и др. Фенольные вещества характеризуются высокой биологической активностью и обуславливают лечебно-профилактическую ценность целевого продукта [1].

Исходя из этого, разработка технологии биологически активных добавок (**БАД**) с высокой концентрацией полезных природных фенольных соединений, является актуальным направлением. Разработанная нами технология БАД-а, обуславливает получение продукта, обогащенного разными биологически активными компонентами. Среды некоторых природных сырьевых ингредиентов, в технологии используется водно-спиртовая настойка чабреца обыкновенного. В связи с этим, целью данной работы являлось исследование водно-спиртовой настойки, в частности, изучение ароматообразующих компонентов эфирного масла и фенольных соединений.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования служила водно-спиртовая настойка (40 об. %) чабреца обыкновенного. Для приготовления настойки брали воздушно-сухое и измельченное сырье (надземную часть чабреца обыкновенного, собранного во время цветения в горах Тушети - Восточная Грузия), добавляли 40%-ый этиловый спирт и настаивали при комнатной температуре в герметически закрытых условиях, в течение 15 дней. Эфирные масла из настойки выделяли путем извлечения пентан-эфирной смеси (2:1). Извлечение проводили 3 раза, пентан-эфирные фракции соединяли, обезвоживали и легко выпаривали в специальной стеклянной посуде, при температуре 17-18°C. Испаренную и концентрированную фракцию эфирного масла анализировали методом газовой хроматографии в следующих условиях: хроматограф "Perkin Elmer. Clarus 500"; Колонка капиллярная "Supelcowax 10"; 60м x 0,25мм. Газ-носитель- азот. Скорость 1мл/мин.

Качественный анализ флавоноидов проводили методом бумажной и тонкослойной хроматографии. Для бумажной хроматографии использовали систему растворителей n-бутанол: уксусная к-та: вода (4: 1: 2), хроматограммы проявляли р-ом $AlCl_3$ в этаноле. Тонкослойную хроматографию проводили в системе хлороформ: метанол (80:20), хроматограммы проявляли диазотированной сульфаниловой кислотой. Выявленные неизвестные в-ва в индивидуальном виде выделяли препаративно и идентифицировали с использованием спектральных данных. При идентификации исследуемых соединений в качестве свидетелей использовали индивидуальные вещества: цинарозид и формонетин. * Хроматографическое исследование проводили методом высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ) в следующих условиях: хроматограф “Varian. Prostar”. Колонка- Cupelcosil LC-18-DB, 25смx4,6мм. Элюент А: 0,5%-ый водный раствор H_3PO_4 . Элюент В: 50% ацетонитрил, 0,5% H_3PO_4 , 49,5% H_2O . Скорость подачи элюента 1мл/мин. Длина волны-280 нм. Детектор -ультрафиолетовый. Условия градиента приведены в табл. 1.

Таблица 1.

| Время, мин. | Элюент А, % | Элюент В, % |
|-------------|-------------|-------------|
| 0 | 100 | 0 |
| 2 | 100 | 0 |
| 7 | 80 | 20 |
| 25 | 60 | 40 |
| 31 | 60 | 40 |
| 35 | 20 | 80 |
| 40 | 0 | 100 |
| 45 | 0 | 100 |

Ультрафиолетовые спектры снимали на приборе „VARIAN“, CARRY 100, а инфракрасные снимали на „THERMO NICOLET“, AVATAR 370. Температуру плавления определяли на приборе „MEL TEMP 3“. Кислотный гидролиз исследуемого соединения проводили с применением соляной кислоты и гидролизат извлекали этилацетатом. Этилацетатную вытяжку анализировали методом бумажной хроматографии.

Антиоксидантную активность формонетина и цинарозида определяли по методу электронного парамагнитного резонанса (ЭПМР) [2].

Результаты и их обсуждение. Пентан-эфирная вытяжка, содержащая эфирные масла, оказалась богатой по содержанию разных компонентов (рис.1).

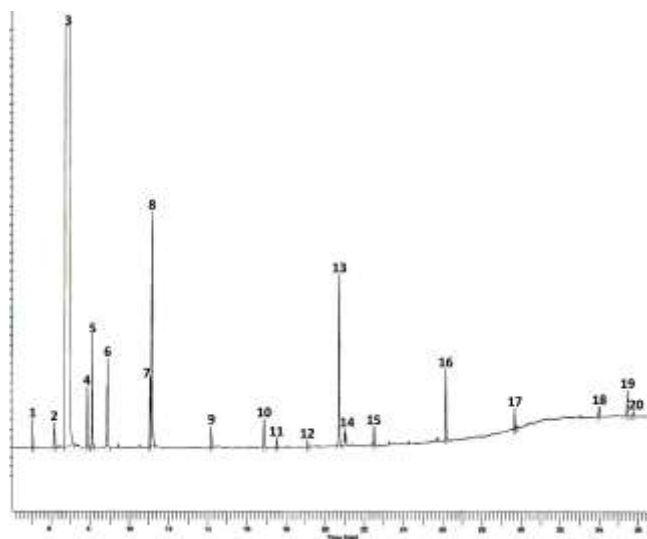


рис.1. Газовая хроматограмма пентан-эфирной фракции настойки чабреца обыкновенного.3) α -пинен; 6) мирцен; 7) лимонен; 9) терпинолен; 12) линалоол; 13) карвакрол; 14) тимол; 15) цитронелон.

Благодаря разнообразному составу эфирного масла настойки чабреца обыкновенного, продукт приобретает свой специфический аромат. В составе настойки зафиксировано два вещества, которые заслужили внимание для идентификации. Они были выделены препаративно и исследованы спектральными данными. Вещество I характеризуется Rf- 0,8 (в системе хлороформ: метанол) и с диазотированной сульфаниловой кислотой дает желтоокрашенное пятно, что указывает на ее фенольную природу.

Ультрафиолетовый спектр вещества I: (EtOH) λ_{\max} 201 нм, 249 нм, 298 нм. Инфракрасный спектр(см^{-1}) 2923, 1596, 1458, 1373. Температура плавления составляет 257-261°C.

По спектральным данным выделенное вещество I оказалось идентичным индивидуальному изофлавоно – формонетина (рис 2,3).

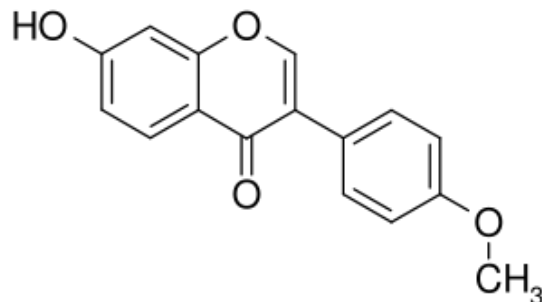
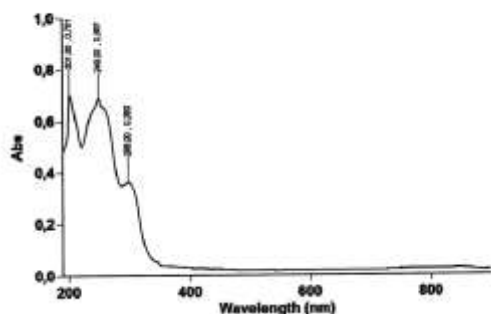


рис.2. Ультрафиолетовый спектр формонетина

формонетин $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$ Mr- 268

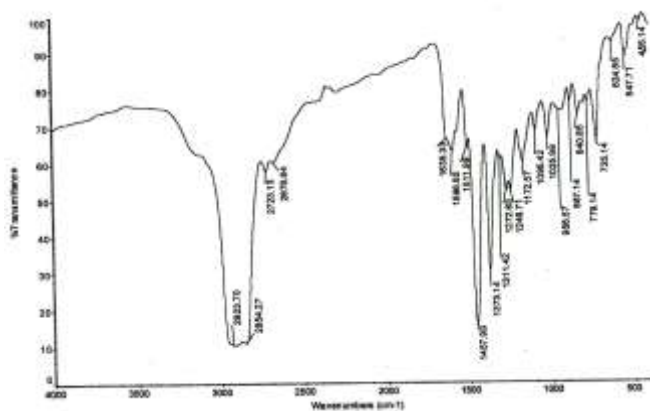


рис.3. Инфракрасный спектр формонетина

Вещество II методом бумажной хроматографии (в системе n-бутанол: уксусная кислота: вода (4:1:2)) характеризуется Rf- 0,43. При проявлении оно дает желтоокрашенные пятна. На основе кислотного гидролиза, оно выявлено как гликозид лутеолина. Выделенное нами вещество II, идентифицировано как цинарозид (гликопиранозид лутеолина) (рис 4,5). Ультрафиолетовый спектр вещества II: (EtOH) λ_{\max} 207 нм, 256 нм, 348 нм. Инфракрасный спектр (см^{-1}) 2923, 1604, 1658, 1458, 1374, 1272. Температура плавления составляет 240-242°C.

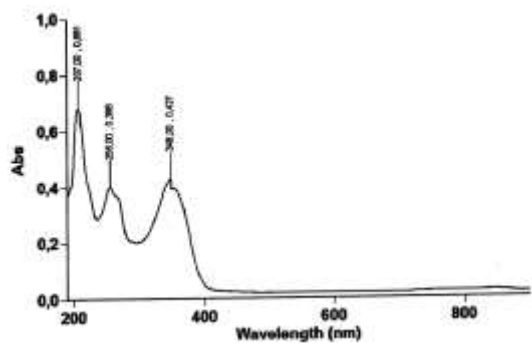
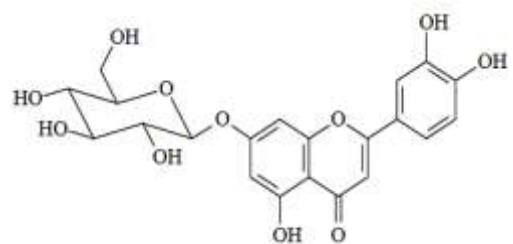


Рис.4. Ультрафиолетовый спектр цинарозида



цинарозид $C_{21}H_{20}O_{11}$ Mr.- 286

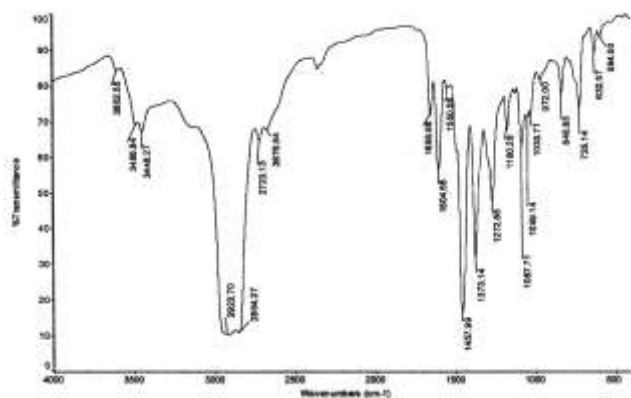


рис.5. Инфракрасный спектр цинарозида

По хроматографическим данным время удерживания формонетина составляет 42,18 мин., а цинарозида- 27,466 мин. (рис.6,7).

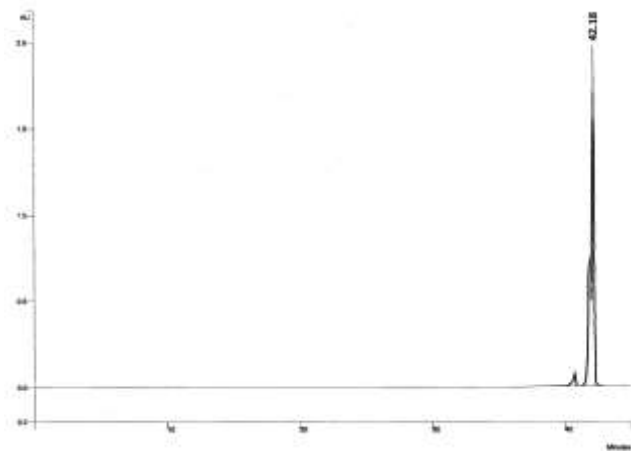


рис.6. ВЭЖХ формонетина

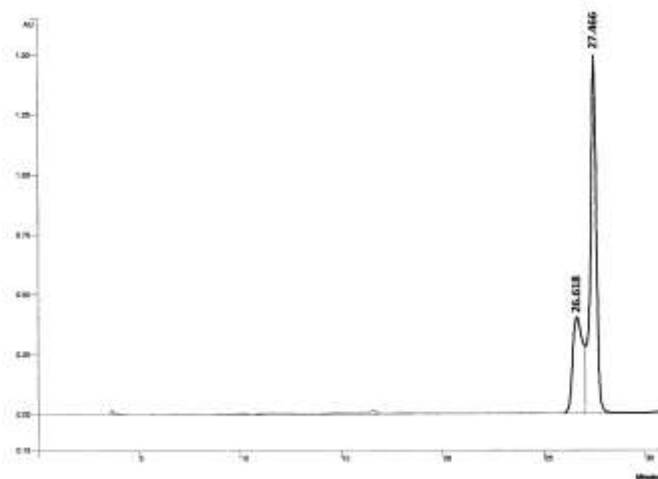


рис.7. ВЭЖХ цинарозида

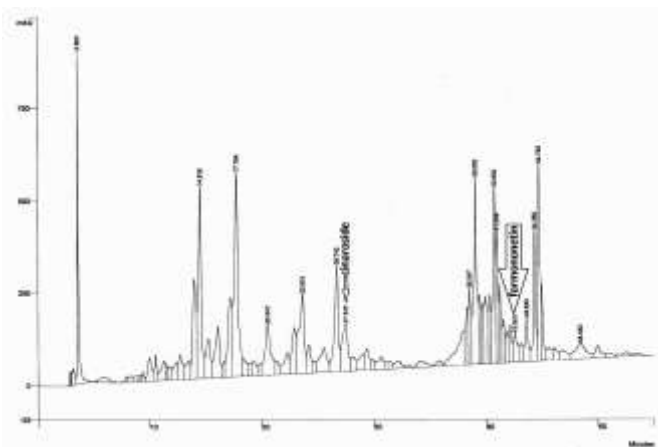


рис.8. ВЭЖХ водно-спиртовой настойки чабреца обыкновенного

В результате ВЭЖХ, в водно-спиртовой настойки (рис.8) цинарозид содержится 2,7мг/л, а формонетин-0,5мг/л.

Антиоксидантная активность (по ЭПМР) составляет: для формонетина-21%, а для цинарозида-54%.

По литературным данным идентифицированные нами вещества, характеризуются определенной биологической активностью. Чанг и соавторы [3] в люцерне и в клевере обнаружили изофлавоны формонетин и установили его фитоэстрогенные свойства. Установлено, что формонетин ответствен за репродуктивную дисфункцию и бесплодие у жвачных животных [4]. Изофлавоны также связываются с репродуктивной дисфункцией крыс [5]. Толезоном и соавторами [6] установлено, что формонетин и биоханин А, которые были добавлены в здоровую пищу, может быть усвоены человеческой печенью и подвергаются превращению микосомальными ферментами. Изофлавоны имеют полезные эстрогенные эффекты, оказывают положительные действие при лечении сердечно-сосудистых заболеваний и могут понизить риск возникновения рака. Авторами установлено как фитоэстрогенная, так и антиоксидантная эффективность формонетина [7]. Цинарозид обладает выраженным гипоазотическим действием. Цинарозид положительно влияет на азотистый обмен, приводя к заметному снижению содержания мочевины и остаточного азота в крови у животных с почечной патологией. Цинарозид обладает высокой гиполипидемической и антиатероматозной активностью [8].

Выводы. В результате проведенного эксперимента выявлен богатый и разнообразный химический состав чабреца обыкновенного. Эфирные масла представлены в виде α-пинена, мирцена, лимонена, терпинолена, линалоола, карвакрола, тимола, цитронелона и других неидентифицированных компонентов. Среди них

преобладает α - пинен. Интересным оказался фенольный спектр водно-спиртовой настойки, в котором идентифицированы изофлавоны- формонетин и цинарозид (гликопиранозид лютеолина). Идентифицированные компоненты эфирного масла и фенольного состава являются важными как с точки зрения органолептической стороны, так и с точки зрения лечебно- профилактической ценности целевого продукта.

*Цинарозид и формонетин были взяты в институте химии растительных веществ (г. Ташкент). Авторы приносят большую благодарность Юлдашеву за оказанную помощь.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jiangrong Li and Yueming Jiang. Litchi Flavonoids: Isolation, Identification and Biological Activity. *Molecules* 2007, 12, 745-758
2. Gardner P.T., Mc. Phai D.B., Duthie G.G. – Elektron spin resonance spektroskopie assesment of the antioxidant potecial of teas in --- s and organic media. *J. Sci. Food Agric.* 1998. 76. 257-262.
3. Hebron C. Chang, Myriam Laly, Ronald L. Prior and Thomas M.Badger. Formononetin–an Isoflavone Metabolite Found in the Liver of Rats Fed with Soy Protein Isolate. *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 12, No. 2, 2004, Pages 161-166
4. Shutt, D. A. and Braden, A. W. H. 1968. The significance of equol in relation to the oestrogenic responses in sheep ingestion clover with a high formononetin content. *Aust. J. Agric. Res.* 19: 545-553.
5. Nagao, T.; Yoshimura, S.; Saito, Y.; Nakagomi, M.; Usumi, K.; Ono, H. Reproductive effects in male and female rats of neonatal exposure to genistein. *Reprod. Toxicol.* 2001, 15, 399-411.
6. William H. Tolleson, Daniel R. Doerge, Mona I. Churchwell, M. Matilde Marques and Dean W. Roberts. Metabolism of Biochanin A and Formononetin by Human Liver Microsomes in Vitro. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 4783-4790 4783
7. Mu H, Bai YH, Wang ST, Zhu ZM, Zhang YW. Research on antioxidant effects and estrogenic effect of formononetin from *Trifolium pratense* (red clover). *Phytomedicine.* 2009, 6(4):314-9.
8. Юлдашев М.П. Кумариновые и флавоноловые гликозиды *HAPLOPHYLLUM PERFORATUM* (M.B.) KAR. ET KIR и *FERULA VARIA* (SCHRENK) TRAUTV. – Автүо дисс. на соиск. ученю степ. канд. хим. наук, Ташкент, 1988. -21 с.ы