

УДК: 615.32:582.949.27:547.1-32

АМИНОКИСЛОТНЫЙ, ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ И ПОЛИСАХАРИДНЫЙ СОСТАВ ТРАВЫ ТИМЬЯНА МЕЛОВОГО (*THYMUS CRETACEOUS KLOK. ET SHOST*)

■ ¹ Н. В. Попова, д. фарм. н., проф. каф. нутрициол. и фарм. броматол.

² В. Н. Бубенчикова, д. фарм. н., проф. каф. фармакогн.

² Ю. А. Старчак, доц. каф. фармакогн.

■ ¹ *Национальный фармацевтический университет, г. Харьков*

² *Курский государственный медицинский университет*

Растения рода тимьян содержат различные классы биологически активных веществ: эфирное масло, тритерпеновые, фенольные соединения и все виды отличаются друг от друга по их качественному и количественному составу, применению в медицинской практике [1, 8]. Состав биологически активных веществ многих видов тимьяна не изучен, в частности химический состав тимьяна мелового изучен недостаточно.

Цель данной работы – изучение аминокислотного, жирнокислотного и полисахаридного состава травы тимьяна мелового для выявления новых перспективных видов рода тимьян и расширения сырьевой базы лекарственных растений.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служила трава тимьяна мелового, заготовленная в Белгородской области в 2015 г. в фазе цветения растений.

Состав аминокислот и их содержание определяли с помощью нингидриновой реакции и хроматографии в тонком слое сорбента, а также с помощью аминокислотного анализатора LKB 4151 «Альфа Плюс» [2, 3, 4].

Для определения общего содержания аминокислот траву тимьяна мелового исчерпывающе экстрагировали горячей водой очищенной, а далее проводили гидролиз в присутствии кислоты хлористоводородной концентрированной. Полученный гидролизат фильтровали, упаривали в вакууме до объема 0,5-1,0 мл, доводили pH полученной пробы до 2,2. Для определения общего содержания аминокислот к 1,0 мл пробы прибавляли 1,0 мл натриево-цитратного буфера (pH 2,2) и проводили анализ на аминокислотном анализаторе. Анализ аминокислот проводили в стандартных условиях, обычно используемых для разделения белковых гидролизатов [3]. Для количественной оценки определяли (автоматически) площади пиков идентифицированных аминокислот. Количество каждой идентифицированной аминокислоты определяли в наномолях и нанограммах в аликвоте, непосредственно использованной для анализа. Затем было рассчитано общее содержание аминокислот в мг/100 мл.

Для определения связанных аминокислот навеску сухого сырья предварительно экстрагировали спиртом эти-

ловым 80 %, а затем пробу заливали водой очищенной и концентрированной кислотой хлористоводородной, гидролизовали и далее определяли содержание аминокислот по описанной выше методике. Концентрацию свободных аминокислот рассчитывали как разность между концентрацией общего содержания аминокислот и концентрацией связанных аминокислот.

Исследование липидных веществ (жирных кислот) проводили методом газо-жидкостной хроматографии [5]. Для анализа 50,0 мг измельченного воздушно-сухого сырья тимьяна мелового помещали в виалу «Agilent» на 2,0 мл, прибавляли 50,0 мкг тридекана в гексане в качестве внутреннего стандарта и 1,0 мл метилирующего агента (14 % BCl_3 в спирте метиловом, Supelco 3-3033). Смесь выдерживали в герметично закрытой виале 8 часов при температуре 65 °C. За это время из растительного сырья полностью извлекается жирное масло, происходит его гидролиз на составляющие жирные кислоты с одновременным их метилированием. Далее реакционную смесь сливали с растительного сырья и разбавляли 1,0 мл воды очищенной. Метиловые эфиры жирных кислот извлекали хлористым метиленом, а затем их хроматографировали на газо-жидкостном хроматографе Agilent Technologies 6890 с масс-спектрометрическим детектором 5973N. Условия анализа: хроматографическая колонка – капиллярная INNOWAX, длиной 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм; газ-носитель – гелий, скорость газа-носителя – 1,2 мл/мин., объем пробы – 2 мкл; скорость ввода пробы 1,2 мл/мин в течение 0,2 минут; температура термостата программируется от 50 °C до 250 °C со скоростью 4 °C/мин.; температура нагревателя ввода пробы 250 °C. Идентификацию жирных кислот проводили путём сравнения с заведомыми образцами метиловых эфиров, а также используя библиотеку масс-спектров NISTO 5 и WILLEY 2007 с общим количеством спектров более 470000 в сочетании с программами для идентификации AMDIS и NIST. Для определения концентрации индивидуальных жирных кислот был применен метод внутреннего стандарта [4, 5].

Для изучения полисахаридного состава воздушно-сухое измельченное сырьё предварительно обрабатывали 70 % спиртом этиловым для удаления полифенольных соединений, затем водой очищенной экстрагировали

водорастворимые полисахариды в соотношении 1:20 к массе сырья при нагревании до 95 °С в течение 2 часов при постоянном перемешивании. Повторное извлечение полисахаридов проводили дважды водой очищенной в соотношении 1:10. Растительный материал отделяли центрифугированием и объединённые извлечения упаривали до 1/5 первоначального объёма. Полисахариды осаждали тройным объёмом 96 % спирта этилового при комнатной температуре. Выпавший плотный осадок водорастворимых полисахаридов отделяли, промывали 70 % спиртом этиловым, ацетоном. Полученный водорастворимый полисахаридный комплекс лиофильно высушивали [6].

Из шрота, оставшегося после получения водорастворимых полисахаридов, выделяли пектиновые вещества экстракцией смесью 0,5 % растворов кислоты щавелевой и аммония оксалата (1:1) в соотношении 1:20 при 80-85 °С в течение 2 часов. Повторное извлечение проводили дважды в соотношении 1:10. Объединённое извлечение концентрировали и осаждали пятикратным объёмом 96 % спирта этилового. Полученный осадок отфильтровывали, промывали спиртом этиловым, высушивали и взвешивали [6].

Исследование моносахаридного состава полисахаридных комплексов проводили методом хроматографии на бумаге после гидролиза 2 М кислотой серной при температуре 100-150 °С в течение 6 часов (для водорастворимого полисахаридного комплекса), 24 часов (для пектиновых веществ). Разделение и идентификацию нейтральных моносахаридов проводили методом нисходящей хроматографии на бумаге в системе растворителей *n*-бутанол-пиридин-вода (6:4:3) параллельно со стандартными образцами сахаров. Кислые моносахара разделяли в системе: этилацетат – кислота муравьиная – вода – кислота уксусная (18:1:4:3). Проявитель – анилин

Таблица 1

Результаты аминокислотного анализа травы тимьяна мелового

Аминокислота	Содержание, мг/100 мг	
	свободных аминокислот	связанных аминокислот
Аспарагиновая кислота	0,04	0,50
Треонин	0,03	0,25
Серин	0,03	0,23
Цистин	0,17	0,17
Глицин	0,04	0,30
Аланин	0,12	0,30
Валин	0,04	0,60
Метионин	0,01	0,15
Изолейцин	0,01	0,11
Лейцин	0,06	0,50
Тирозин	0,04	0,20
Фенилаланин	0,03	0,25
Гистидин	0,02	0,15
Лизин	0,04	0,30
Аргинин	0,06	0,65
Глутаминовая кислота	-	0,50
Пролин	-	0,45
Сумма аминокислот	0,74	5,64

фталат, температура проявления – 100 °С, длительность проявления 10-15 минут [6].

Результаты исследования и их обсуждение

В результате изучения аминокислотного состава травы тимьяна мелового установлено, что он представлен 17 соединениями (табл. 1). Содержание свободных аминокислот составляет 0,74 мг/100 мг, среди них наибольшее содержание отмечено у цистина (0,17 мг/100 мг) и аланина (0,12 мг/100 мг). Содержание связанных аминокислот составляет 5,64 мг/100 мг, среди которых преобладают аргинин (0,65 мг/100 мг), валин (0,60 мг/100 мг).

Результаты изучения жирнокислотного состава показали наличие 16 жирных кислот. Среди них в большом количестве встречаются насыщенные жирные кислоты: пальмитиновая (1779,1 мг/кг), бегеновая (1084,15 мг/кг) а также ненасыщенные: линолевая (708,90 мг/кг) и линоленовая кислоты (678,82 мг/кг) (табл. 2).

При изучении полисахаридного состава были выделены водорастворимый полисахаридный комплекс и пектиновые вещества (табл. 3). Выход водорастворимого полисахаридного комплекса составил $7,58 \pm 0,18$ %. Он представляет собой аморфное вещество светло-коричневого цвета, без запаха, хорошо растворимое в воде, даёт положительные реакции осаждения со спиртом этиловым, ацетоном, реакцию Фелинга после кислотного гидролиза.

Выход пектиновых веществ составил $8,96 \pm 0,20$ % от массы воздушно-сухого сырья. Пектиновый комплекс представляет собой порошок светло-кремового цвета, без запаха, хорошо растворим в воде с образованием вязкого раствора (рН 1 % водного раствора 3-4). Водный раствор пектиновых веществ осаждается 1 % раствором алюминия сульфата с образованием пектатов. Методом хроматографии на бумаге параллельно с достоверными образцами сахаров в исследуемом ВРПС идентифицировали глюкозу, галактозу, арабинозу, рамнозу, ксилозу, глюкуроновую

Таблица 2

Жирнокислотный состав липидов травы тимьяна мелового

№ п/п	Жирные кислоты	Содержание жирных кислот, мг/кг
1	Миристиновая кислота	189,81
2	Капроновая кислота	7,45
3	α -фурановая кислота	11,91
4	Лауриновая кислота	8,00
5	Пальмитиновая кислота	1779,02
6	Пальмитолеиновая кислота	62,87
7	Гептадекановая кислота	46,24
8	Стеариновая кислота	172,07
9	Олеиновая кислота	499,52
10	2-оксипальмитиновая кислота	48,95
11	Линолевая кислота	708,90
12	Линоленовая кислота	678,82
13	Арахидиновая кислота	307,25
14	Бегеновая кислота	1084,15
15	Тетракозановая кислота	256,18
16	Трикозановая кислота	60,30

Таблиця 3

Моносахариди в полісахаридних комплексах трави тимьяна мелового

Моносахариди	Полісахаридні комплекси, %	
	ВРПС	ПВ
Арабіноза	8,60 ± 0,30	4,50 ± 0,19
Галактоза	7,90 ± 0,35	3,70 ± 0,12
Глюкоза	3,90 ± 0,16	-
Ксилоза	1,00 ± 0,04	0,31 ± 0,01
Рамноза	0,71 ± 0,02	0,41 ± 0,02
Галактуронова кислота	0,90 ± 0,04	89,30 ± 1,84
Глюкуронова кислота	3,60 ± 0,14	-

и галактуроновые кислоты, с преобладанием галактозы и арабинозы. В выделенном пектиновом комплексе преобладающей является галактуронозная кислота, кроме того, в нём обнаружены и нейтральные моносахариды: галактоза, арабиноза, ксилоза и рамноза.

Література

1. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 4. Семейства *Caprifoliaceae-Lobeliaceae* / Отв. ред. А. Л. Буданцев. // СПб.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. – 630 с.
2. Исследование химического состава эфирного масла представителей рода *Thymus L.*, произрастающих на Алтае / Ю. А. Банаева, Л. М. Покровский, А. В. Ткачёв // Хим. растит. сырья. – 1999. – № 3. – С. 41-48.
3. Аминокислотный состав некоторых представителей растений семейства розоцветных / В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Сухомлинов, Н. Ф. Гончаров // Человек и его здоровье. – 2009. – № 3. – С. 134-137.
4. Бубенчиков Р. А. Аминокислотный и минеральный состав травы фималики удивительной // Вест. Воронеж. Гос. Универ., серия Химия. Биология. Фармация. – 2006. – № 1. – С. 186-188.

Выводы

1. В траве тимьяна мелового обнаружено 17 аминокислот. Содержание свободных аминокислот составляет 0,74 мг/100 мг, связанных 5,64 мг/100 мг. Основными азотосодержащими соединениями являются аргинин, валин.

2. Жирнокислотный состав представлен 16 соединениями, из них высокая концентрация отмечена для пальмитиновой (1779,02 мг/кг), бегеновой (1084,15 мг/кг), линолевой (708,90 мг/кг) и линоленовой (678,82 мг/кг) кислот.

3. Выделен, изучен качественный и количественный моносахаридный состав водорастворимого полисахаридного комплекса и пектиновых веществ травы тимьяна мелового. Преобладающими моносахаридами в водорастворимом полисахаридном комплексе являются арабиноза (8,60 %) и галактоза (7,90 %); основу пектиновых веществ составляет галактуронозная кислота (89,30 %).

5. Аминокислотный, жирнокислотный и углеводный состав сока некоторых видов рода *Betula* / Т. А. Шуляковская, Л. В. Ветчинникова, М. К. Ильинова [и др.] // Растит. ресур. – 2006. Т. 42., выпуск 2. – С. 69-77.
6. Development in lipid analysis: some new extraction techniques and in situ transesterification / A. I. Carrapiso, C. Carcia // Lipids. – 2000. – № 35. – P. 1167-1177.
7. Фенольные соединения и полисахариды подмаренника цепкого (*Galium aparine L.*) / В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Старчак // Человек и его здоровье. 2008. – № 3. – С. 117-121.
8. Лекарственные растения мировой флоры / Н. В. Попова, В. И. Литвиненко Х.: СПДФЛ Мосякин В. Н., 2008. – 510 с.

Поступила в редакцию 01.02.2016

УДК: 615.32:582.949.27:547.1-32

Н. В. Попова, В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Старчак АМИНОКИСЛОТНЫЙ, ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ И ПОЛИСАХАРИДНЫЙ СКЛАД ТРАВИ ЧЕБРЕЦЮ КРЕЙДЯНОГО (*THYMUS CRETACEOUS KLOK. ET SHOST*)

Ключові слова: чебрець крейдяний, амінокислоти, жирні кислоти, водорозчинні полісахариди, пектинові речовини.

У статті наведені дані по вивченню амінокислотного, жирнокислотного та вуглеводного складу трави чебрецю крейдяного. Амінокислотний склад представлений 17 речовинами, серед яких основними є аргінін і валин. Висока концентрація серед жирних кислот відзначена для пальмітинової (1779,02 мг/кг), бегенової (1084,15 мг/кг), лінолевої (708,90 мг/кг) і ліноленової (678,82 мг/кг) кислот. Вивчення якісного та кількісного моносахаридного складу показало, що переважаючими моносахаридами у водорозчинному полісахаридному комплексі є арабіноза (8,60 %), галактоза (7,90 %); основу пектинових речовин становить галактуронозна кислота (89,30 %).

Н. В. Попова, В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Старчак АМИНОКИСЛОТНЫЙ, ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ И ПОЛИСАХАРИДНЫЙ СОСТАВ ТРАВЫ ТИМЬЯНА МЕЛОВОГО (*THYMUS CRETACEOUS KLOK. ET SHOST*)

Ключевые слова: тимьян меловой, аминокислоты, жирные кислоты, водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества.

В статье приведены данные по изучению аминокислотного, жирнокислотного и углеводного состава травы тимьяна мелового. Аминокислотный состав представлен 17 веществами, среди которых основными являются аргинин и валин. Высокая концентрация среди жирных кислот отмечена для пальмитиновой (1779,02 мг/кг), бегеновой (1084,15 мг/кг), линолевой (708,90 мг/кг) и линоленовой (678,82 мг/кг) кислот. Изучение качественного и количественного моносахаридного состава показало, что преобладающими моносахаридами в водорастворимом полисахаридном комплексе являются арабиноза (8,60 %), галактоза (7,90 %); основу пектиновых веществ составляет галактуронозная кислота (89,30 %).

N. V. Popova, V. N. Bubenchikova, Y. A. Starchak AMINO, FATTY ACIDS AND POLYSACCHARIDE CONTENT OF THYMUS CRETACEOUS KLOK. ET SHOST HERB

Keywords: *Thymus cretaceus*, amino acids, fatty acids, water-soluble polysaccharides, pectins.

The article presents the results of analysis of the amino acid, fatty acid and carbohydrate composition of the herb *Thymus cretaceus*. The amino acid composition is represented by 17 acids, among which arginine and valine are the main. The high concentration of fatty acids includes palmitic (1779.02 mg/kg), behenic (1084.15 mg/kg), linoleic (708.90 mg/kg) and linolenic (678.82 mg/kg) acids. Study of qualitative and quantitative monosaccharide composition shows that the predominant monosaccharides in a water-soluble polysaccharide complexes are arabinose (8.60 %), galactose (7.90 %); basis of pectin is represented by galacturonic acid (89.30 %).

