

## ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ТИМЬЯНА МАРШАЛЛА НА АНТИОКСИДАНТНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ОПЫТЕ *IN VIVO* И *IN VITRO*

**А.С. Шереметьева, Н.А. Дурнова, Ю.Г. Чернышева**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Саратов, Россия

**Как цитировать:** Шереметьева А.С., Дурнова Н.А., Чернышева Ю.Г. Влияние экстрактов тимьяна Маршалла на антиоксидантные процессы в опыте *in vivo* и *in vitro* // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 127–131. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.127-131>

Поступила: 24.03.2021

Одобрена: 19.05.2021

Принята: 06.09.2021

▪ **Обоснование.** В настоящее время накоплены фундаментальные и экспериментальные данные, подтверждающие роль свободных радикалов в физиологических и патологических процессах. В литературе описаны противоречивые сведения о влиянии антиоксидантов на организм: они способны защищать не только нормальные клетки от альтерирующего воздействия свободных радикалов, но и опухолевые, тем самым подерживая их выживаемость и рост, поэтому актуальным является изучение влияния извлечений тимьяна Маршалла на процессы липопероксидации *in vivo* на фоне опухолевого процесса.

**Цель** — изучить влияние водных и спиртовых извлечений тимьяна Маршалла (*Thymus marchallianus* Willd.) на уровень промежуточных продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови беспородных белых крыс на фоне перевитого рака печени РС-1 и сравнить с антиоксидантной активностью *in vivo*.

**Материалы и методы.** Объект исследования — высушенная трава тимьяна Маршалла. В эксперименте использованы водные и спиртовые извлечения. Эксперимент проводили на 15 самцах белых беспородных крыс на фоне перевитой опухоли: первая группа — интактная, вторая — получала водное извлечение тимьяна Маршалла, третья — получала спиртовое извлечение тимьяна Маршалла. Активность процессов липопероксидации оценивали по содержанию в плазме крови экспериментальных крыс промежуточных продуктов перекисного окисления липидов — малонового диальдегида, гидроперекисей липидов и молекул средней массы, общепринятыми спектрофотометрическими методами. Определение антиоксидантной активности настоя и спиртового извлечения в эксперименте *in vitro* проводили титриметрическим методом.

**Результаты.** В группе контрольных животных и группах, получавших внутрибрюшинно водные и спиртовые извлечения тимьяна Маршалла, не наблюдали усиления образования промежуточных продуктов липопероксидации. Содержание малонового диальдегида, гидроперекисей липидов и молекул средней массы в плазме крови опытных крыс достоверно не отличалось от уровня аналогичных показателей интактных животных. В эксперименте *in vitro* водные и спиртовые извлечения из сырья тимьяна Маршалла показали антиоксидантную активность.

**Заключение.** Впервые проведен эксперимент по изучению влияния водных и спиртовых извлечений тимьяна Маршалла на процессы липопероксидации у беспородных белых крыс на фоне перевитого альвеолярного рака печени РС-1. Активность образования промежуточных продуктов перекисного окисления липидов не изменялась, так как их содержание в плазме крови опытных животных не отличалось от уровня аналогичных показателей интактных животных. *In vitro* настоей и спиртовое извлечение продемонстрировали антиоксидантную активность.

▪ **Ключевые слова:** тимьян Маршалла; *Thymus marchallianus* Willd.; трава; настоей; спиртовое извлечение; липопероксидация.

## EFFECT OF *THYMUS MARSCHALLIANUS* EXTRACT ON LIPID PEROXIDATION PROCESSES *IN VIVO* AND *IN VITRO* EXPERIMENTS

**A.S. Sheremetyeva, N.A. Durnova, Yu.G. Chernysheva**

Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia

**To cite this article:** Sheremetyeva AS, Durnova NA, Chernysheva YuG. Effect of *Thymus marschallianus* extract on lipid peroxidation processes *in vivo* and *in vitro* experiments. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2021;(5-6):127–131. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.127-131>

Received: 24.03.2021

Revised: 19.05.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ **BACKGROUND:** Currently, fundamental and experimental data confirming the role of free radicals in physiological and pathological processes have been accumulated. The literature describes conflicting information about the effect of antioxidants on the organism: they are able to protect not only normal cells from the alterative effect of free radicals, but also tumor cells, thereby supporting the survival and growth of the latter. Therefore, the study of the effect of *Thymus marchallianus* extract on the processes of lipoperoxidation in vivo against the background of the tumor process is relevant.

**AIM:** To study the effect of *Thymus marchallianus* extract on the quantity of lipid peroxidation intermediates in the blood plasma of mongrel white rats with liver cancer PC-1 and compare with *in vivo* antioxidant activity.

**MATERIALS AND METHODS:** The object of research was the dried *Thymus marchallianus* grass. Water and alcohol extracts were used in the experiment. Fifteen male white mongrel rats with a tumor were included in the experiment: the first group was intact, the second group received the water extract of *Thymus marchallianus*, and the third group received the alcohol extract of *Thymus marchallianus*. The activity of lipoperoxidation processes was evaluated, the content of intermediate lipid peroxidation intermediates – malon dialdehyde, lipid hydroperoxides and medium-mass molecules in the blood plasma of experimental rats were estimated by means of conventional spectrophotometric methods. Determination of the antioxidant activity of the infusion and alcohol extraction in the *in vitro* experiment was carried out by the titrimetric method.

**RESULTS:** In the control groups and the group of animals that received intraperitoneal water and alcohol extracts of *Thymus marchallianus*, increase in the intermediate products of lipid peroxidation was not revealed. The amount of malon dialdehyde, lipid hydroperoxides and medium-mass molecules in the blood plasma of experimental rats did not differ significantly from the level of similar indicators of intact animals. In the *in vitro* experiment, water and alcohol extracts from raw *Thymus marchallianus* showed antioxidant activity.

**CONCLUSIONS:** For the first time, the experiment was conducted to study the effect of water and water-alcohol extracts of *Thymus marchallianus* on lipoperoxidation processes in mongrel white rats with alveolar liver cancer PC-1. The activity of formation of intermediate products of lipid peroxidation did not change, since their content in the blood plasma of experimental animals did not differ from the level of similar indicators of intact animals. *In vitro* the infusion and alcohol extract demonstrated antioxidant activity.

▪ **Keywords:** *Thymus marchallianus*; herb; extract; infusion; alcoholic extract; lipid peroxidation product.

## Обоснование

Среди растений рода *Thymus* L. официальными являются два вида: тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.) и тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris* L.), сырье которых рекомендовано к применению в качестве отхаркивающего средства. Интерес представляет изучение близкородственных видов с целью выявления новых аспектов их биологической активности. С этой точки зрения перспективным источником лекарственного растительного сырья является тимьян Маршалла (*Thymus marchallianus* Willd.). Ранее уже были установлены некоторые аспекты биологической активности экстрактов этого растения: антимикробная [10, 12, 13], отхаркивающая, противовоспалительная [10], а также проведены определения качественного и количественного состава эфирных масел [2, 11, 13]. Кроме того, водные и спиртовые извлечения травы тимьяна Маршалла показали антиоксидантную активность в эксперименте *in vitro* [10].

В настоящее время накоплены фундаментальные и экспериментальные данные, подтверждающие роль свободных радикалов в физиологических и патологических процессах. В литературе описаны противоречивые сведения о влиянии антиоксидантов на организм: они способны защищать не только нор-

мальные клетки от альтерирующего воздействия свободных радикалов, но и опухолевые, тем самым поддерживая их выживаемость и рост [3, 5, 7], поэтому актуально изучение влияния экстракта тимьяна Маршалла на процессы липопероксидации *in vivo* на фоне опухолевого процесса.

**Цель исследования** — изучить влияние водных и спиртовых извлечений тимьяна Маршалла на уровень промежуточных продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови беспородных белых крыс на фоне перевитого рака печени PC-1 и сравнить с антиоксидантной активностью *in vivo*.

## Материалы и методы

В качестве объекта исследования использована высушенная трава тимьяна Маршалла, которая собрана в окрестностях Саратова в июне-июле 2018 г. Настой готовили в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи XIV издания (ОФС 1.4.1.0018.15 «Настои и отвары»). Спиртовое извлечение получено по ранее применяемой методике [9], которая, в частности, позволила получить экстракты, показавшие антиоксидантную активность [1, 6].

Эксперимент *in vivo* проводили на 15 самцах белых беспородных крыс массой  $228,0 \pm 27,0$  г,

которым имплантировали подкожно опухольную взвесь клеток альвеолярного рака печени — РС-1. Животные были разделены на 3 группы по 5 крыс: первая группа — интактная, вторая — получала водное извлечение тимьяна Маршалла, третья — спиртовое извлечение тимьяна Маршалла. Эксперимент был начат при достижении опухоли 1 см<sup>3</sup>.

Экстракты вводили внутривентриально один раз в день в течение 14 сут. Животных выводили из эксперимента путем декапитации и забирали кровь для дальнейших исследований. Активность процессов липопероксидации оценивали по содержанию в плазме крови экспериментальных крыс промежуточных продуктов перекисного окисления липидов — малонового диальдегида, гидроперекисей липидов и молекул средней массы, общепринятыми спектрофотометрическими методами с использованием спектрофотометра Shimadzu СФ-UV 1800 [4]. Статистическую обработку проводили при помощи пакета программного обеспечения Statistica 10.0.

Работу с лабораторными животными осуществляли согласно протоколу исследований, не противоречащих Женевской конвенции 1985 г. о «Международных принципах биомедицинских исследований с использованием животных». Тема и описание экспериментов одобрены этической комиссией ФГБОУ ВО

«Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России (протокол № 4 от 03.05.2020).

Определение антиоксидантной активности настоя и спиртового извлечения в эксперименте *in vitro* проводили титриметрическим методом, основанным на взаимодействии калия перманганата с веществами восстанавливающего характера, содержащимися в растительном сырье тимьяна Маршалла. Расчет показателя антиоксидантной активности, которому соответствует концентрация биологически активных веществ восстанавливающего характера, осуществляли в пересчете на цинарозид, рутин и кверцетин [8]. Титрование проведено в трехкратной повторности.

## Результаты и обсуждение

В ходе эксперимента получены следующие результаты: в условиях *in vivo* в группе контрольных животных и группах, получавших внутривентриально водные и спиртовые извлечения тимьяна Маршалла, не наблюдали усиления образования промежуточных продуктов липопероксидации. Содержание малонового диальдегида, гидроперекисей липидов и молекул средней массы в плазме крови опытных крыс достоверно не отличалось от уровня аналогичных показателей интактных животных (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Уровень промежуточных продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови беспородных белых крыс на фоне перевитого рака печени РС-1 при введении экстрактов тимьяна Маршалла

The level of intermediate products of lipid peroxidation in the blood serum of mongrel white rats against the background of transplanted liver cancer RS-1 with the introduction of *Thymus marchallianus* extracts

| Группа экспериментальных животных                       | Показатель                     |                              |                                  |
|---|--------------------------------|------------------------------|----------------------------------|
|   | малоновый диальдегид, мкмоль/л | гидроперекись липидов, о. е. | молекулы средней массы, усл. ед. |
| Интактные крысы   | 9,28 ± 1,82                    | 0,16                         | 0,31 ± 0,03                      |
| Крысы, получавшие водное извлечение тимьяна Маршалла    | 9,28 ± 1,30                    | 0,32                         | 0,16 ± 0,03                      |
| Крысы, получавшие спиртовое извлечение тимьяна Маршалла | 10,00 ± 1,23                   | 0,23                         | 0,19 ± 0,06                      |

Примечание. Различия между экспериментальными группами недостоверны ( $p > 0,05$ ).  
Note. The difference between the experimental group is unreliable ( $p > 0,05$ ).

Таблица 2 / Table 2

Антиоксидантная активность экстрактов тимьяна Маршалла  
Antioxidant activity of *Thymus marchallianus* extracts

| Извлечения тимьяна Маршалла | Антиоксидантная активность, мг/г |                          |                      |
|-----------------------------|----------------------------------|--------------------------|----------------------|
|                             | в пересчете на кверцетин         | в пересчете на цинарозид | в пересчете на рутин |
| Водное извлечение           | 17,46 ± 0,69                     | 29,33 ± 1,15             | 29,33 ± 1,15         |
| Спиртовое извлечение        | 233,33 ± 28,87                   | 392,00 ± 48,50           | 392,00 ± 48,50       |

В эксперименте *in vitro*, основанном на окислении антиоксидантов перманганатом калия в кислой среде [8], установлено, что водные и спиртовые извлечения из сырья тимьяна Маршалла обладают антиоксидантной активностью. Спиртовые извлечения, приготовленные по запатентованной методике [9], показали более выраженную антиоксидантную активность, чем настои (табл. 2).

Данные эксперимента демонстрируют неоднозначность, так как результаты в проведенных экспериментах *in vivo* и *in vitro* не согласуются. Ранее в эксперименте *in vitro* [10] также была показана антиоксидантная активность водных и спиртовых извлечений травы тимьяна Маршалла. Процессы *in vivo* протекают под влиянием многообразных факторов на живой организм. Во-первых, в организме имеются собственные системы антиоксидантной защиты (низкомолекулярные антиоксиданты, антиоксидантные ферменты). Во-вторых, активность перекисного окисления липидов у некоторых видов опухолевых клеток может быть снижена за счет их собственной специфической антиоксидантной защиты [5, 7]. В данном эксперименте введение экстрактов проводилось на фоне развития перевитой опухоли, что могло повлиять на результаты.

Извлечения из лекарственного растительного сырья представляют собой сложный комплекс биологически активных веществ (основными химическими составляющими растений этого рода являются эфирное масло, фенольные соединения, тритерпеновые соединения, полисахаридные комплексы, минеральные элементы, аминокислоты, карбоновые кислоты [10]), что затрудняет возможность предположения биологически активного компонента, за счет которого показана активность *in vitro*.

Таким образом, проведенный нами эксперимент стал начальным этапом изучения влияния экстрактов тимьяна Маршалла на процессы перекисного окисления *in vivo*. В ходе дальнейшего исследования необходимо применение более широкого спектра показателей активности процессов липопероксидации, что позволит сделать вывод не только о наличии антиоксидантной активности экстракта, но и предположить возможные механизмы его влияния.

### Заключение

Впервые проведен эксперимент по изучению влияния водных и спиртовых извлечений тимьяна Маршалла на процессы липопероксидации у беспородных белых крыс на фоне перевитого рака печени РС-1. Содержание малонового диальдегида, гидроперекисей липидов и молекул

средней массы в плазме крови опытных животных достоверно не отличалось от уровня аналогичных показателей интактных животных. В эксперименте *in vitro* водные и спиртовые извлечения из сырья тимьяна Маршалла показали антиоксидантную активность.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

### Список литературы

1. Дурнова Н.А., Афанасьева Г.А., Курчатова М.Н. и др. Содержание маркеров оксидативного стресса в плазме крови под действием экстрактов аврана лекарственного, бессмертника песчаного, антоциановой формы кукурузы обыкновенной в условиях индуцированного окислительного стресса // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. № 78. С. 36–40.
2. Дурнова Н.А., Романтеева Ю.В., Ковтун А.Н. Химический состав эфирного масла *Thymus marshallianus* Willd. и *Thymus pallasianus* H. Br., произрастающих на территории Саратовской области // Химия растительного сырья. 2014. № 2. С. 115–119.
3. Курчатова М.Н., Шереметьева А.С., Чемарев А.П. Противоопухолевая активность природных антиоксидантов: уровень изученности, перспективы // Материалы международной научно-практической конференции «Инновационное развитие: потенциал науки и современного образования»; Январь, 2018. Пенза, 2018. С. 51–54.
4. Медицинские лабораторные технологии: справочник / под ред. А.И. Карпищенко. СПб., 2002.
5. Никифорова Н.В., Берман А.Е. Антиоксиданты в злокачественных опухолях человека и экспериментальных животных // Биомедицинская химия. 2003. Т. 49, № 3. С. 250–262.
6. Пластун В.О., Комарова Е.Э., Дурнова Н.А. и др. Изменения активности процессов липопероксидации под влиянием экстракта очитка большого (*Sedum maximum* (L.) Hoffm.) // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. 2015. № 2. С. 178–183.
7. Пузаков К.К., Дурнова Н.А., Рыженкова И.Г. Современные представления о влиянии экзогенных антиоксидантов на рост злокачественных опухолей // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2019. Т. 17, № 2. С. 29–33.
8. Патент RU 2170930 C1/20.07.2001. Максимова Т.В., Никулина И.Н., Пахомов В.П. и др. Способ определения антиокислительной активности.
9. Патент RU 2482863 C1/27.05.2013. Бучарская А.Б., Дурнова Н.А., Маслякова Г.Н. и др. Способ получения сухого экстракта из растительного сырья, обладающего биологической активностью.
10. Старчак Ю.А. Фармакогностическое изучение растений рода тимьян (*Thymus* L.) как перспективного источника получения фитопрепаратов: дис. ... докт. фарм. наук. Самара, 2016. Режим доступа: <http://www.samsmu.ru/files/referats/2016/starchak/dissertation.pdf>. Дата обращения: 26.03.2020.



11. Шереметьева А.С., Дурнова Н.А., Березуцкий М.А. Содержание эфирных масел в траве разных видов рода тимьян (*Thymus* L.) // Бюллетень ботанического сада Саратовского государственного университета. 2017. Т. 15, № 2. С. 15–19. DOI: 10.18500/1682-1637-2017-15-2-15-19
12. Шереметьева А.С., Дурнова Н.А., Райкова С.В. Исследование антимикробной активности водно-спиртового экстракта тимьяна Маршалла // VII научная конференция с международным участием «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения»; Декабрь 19, 2019; Москва, 2019. С. 509–514.
13. Niculae M., Hanganu D., Oniga I. et al. Phytochemical profile and antimicrobial potential of extracts obtained from *Thymus marchallianus* Willd // *Molecules*. 2019. Vol. 24, No. 17. P. 3101.
5. Nikiforova NV, Berman AE. Antioksidanty v zlo-kachestvennykh opukholyakh cheloveka i eksperimental'nykh zhivotnykh. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2003;49(30):250–262. (In Russ.)
6. Plastun VO, Komarova EE, Durnova N A, et al. Izmeneniya aktivnosti protsessov lipoperoksidatsii pod vliyaniem ekstrakta ochitka bol'shogo (*Sedum maximum* (L.) Hoffm.). *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya*. 2015;(2):178–183. (In Russ.)
7. Puzakov KK, Durnova NA, Ryzhenkova IG. Sovremennye predstavleniya o vliyanii ekzogennykh antioksidantov na rost zlokachestvennykh opukholey. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*. 2019;17(2):29–33. (In Russ.)
8. Patent RU2170930C1/20.07.2001. Maksimova TV, Nikulina IN, Pakhomov VP, et al. Method for determining antioxidation activity. (In Russ.)
9. Patent RU2482863C1/27.05.2013. Bucharskaya AB, Durnova NA, Maslyakova GN, et al. Sposob polucheniya sukhogo ekstrakta iz rastitel'nogo syr'ya, obladayushchego biologicheskoy aktivnost'yu. (In Russ.)
10. Starchak YuA. Farmakognosticheskoe izuchenie rasteniy roda tim'yan (*Thymus* L.) kak perspektivnogo istochnika polucheniya fitopreparatov [dissertation]. Samara; 2016. (In Russ.). Available from: <http://www.samsmu.ru/files/referats/2016/starchak/dissertation.pdf>. Accessed: 26.03.2020.
11. Sheremetyeva AS, Durnova NA, Beretzsky MA. Soderzhanie efirnykh masel v trave raznykh vidov roda tim'yan (*Thymus* L.). *Byulleten' botanicheskogo sada Saratovskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2017;15(2):15–19. (In Russ.). DOI: 10.18500/1682-1637-2017-15-2-15-19
12. Sheremetyeva AS, Durnova NA, Raykova SV. Issledovanie antimikrobnoy aktivnosti vodno-spirovogo ekstrakta *Thymus marchallianus*. Proceedings of the VII Scientific Conference with International Participation “Sovremennye tendentsii razvitiya tekhnologiy zdorov'esberezeniya”; Des 19, 2019. Moscow; 2019. P. 509–514. (In Russ.)
13. Niculae M, Hanganu D, Oniga I, et al. Phytochemical profile and antimicrobial potential of extracts obtained from *Thymus marchallianus* Willd. *Molecules*. 2019;24(17):3101.

## References

1. Durnova NA, Afanasieva GA, Kurchatova MN, et al. Soderzhanie markerov oksidativnogo stressa v plazme krovi pod deystviem ekstraktov avrana lekarstvennogo, bessmertnika peschanogo, antotsianovoy formy kukuruzy obyknovnoy v usloviyakh indutsirovannogo okislitel'nogo stressa. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2015;(78):36–40. (In Russ.)
2. Durnova NA, Romanteeva JuV, Kovtun AN. Khimicheskii sostav efirnykh masel *Thymus marchallianus* Willd. i *Thymus pallasianus* H. Br., proizrastayushchikh na territorii Saratovskoy oblasti. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2014;(2):115–119. (In Russ.)
3. Kurchatova MN, Sheremetyeva AS, Chemarev AP. Protiopukhlevaya aktivnost' prirodnykh antioksidantov: uroven' izuchennosti, perspektivy. Proceedings of the International Scientific and Practical Conferences “Innovatsionnoe razvitie: potentsial nauki i sovremennogo obrazovaniya”; 2018 Jan, Penza. Penza; 2018. P. 51–54. (In Russ.)
4. Meditsinskie laboratornye tekhnologii: spravochnik. Ed. by A.I. Karpishchenko. Saint Petersburg; 2002. (In Russ.)

### ■ Информация об авторах

Анна Сергеевна Шереметьева — старший преподаватель кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники. ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия. E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru

Наталья Анатольевна Дурнова — доктор биологических наук, доцент, заведующая кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники. ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия. E-mail: ndurnova@mail.ru

Юлия Григорьевна Чернышева — студентка 4-го курса фармацевтического факультета. ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия. E-mail: 27july27@mail.ru

### ■ Information about the authors

Anna S. Sheremetyeva — Senior Lecturer, Department of General Biology, Pharmacognosy and Botany. Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia. E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru

Natalya A. Durnova — Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of General Biology, Pharmacognosy and Botany. Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia. E-mail: ndurnova@mail.ru

Yulia G. Chernysheva — 4<sup>th</sup> year student, Faculty of Pharmacy. Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia. E-mail: 27july27@mail.ru