

УДК 543.612.3

ГХ-МС ИССЛЕДОВАНИЕ СУБКРИТИЧЕСКИХ ВОДНЫХ И ЭТАНОЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ ЛИСТЬЕВ РОЗМАРИНА (*ROSMARINUS OFFICINALIS L.*)*

© Г.И. Вдовина^{1**}, Л.В. Павлова¹, И.А. Платонов¹, В.А. Куркин²

¹ Самарский государственный национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Московское шоссе, 34, Самара, 443086, Россия, galina-vdovina@mail.ru

² Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, 89, Самара, 443099, Россия

Проведена экстракция биологически активных соединений (БАС) из листьев розмарина обыкновенного (*Rosmarinus officinalis L.*) водно-этанольными смесями с содержанием этанола 95, 70, 50, 10% мацерацией, а также при кипячении с обратным холодильником, горячей водой и субкритической водой при температуре 130, 150 °С и давлении 5±0.1 МПа в динамическом режиме. Экстракты анализировали методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием прямым вводом, а также после дериватизации N,O-бистриметилсилилтрифторацетамидом. В экстрактах из листьев розмарина было идентифицировано около 100 компонентов, доминирующие – фенольные соединения и карбоновые кислоты. Основными летучими органическими соединениями являются терпеноиды: α-терпинеол, борнеол, камфора, α-пинен, β-пинен, мирцен, ароматические соединения: *n*-винилгваякол, цимол. К доминирующим нелетучим компонентам всех экстрактов относятся фенолкарбоновые кислоты: розмариновая кислота, кофейная кислота, бензойная кислота, карбоновые кислоты: малоновая кислота, капроновая кислота, глутаровая кислота, пальмитиновая кислота, а также углеводы: рафиноза, D-маннопираноза, D-фруктоза. С повышением температуры процесса динамической экстракции водой эффективность извлечения нелетучих компонентов увеличивается. По числу извлекаемых соединений эффективность экстракции субкритической водой сопоставима с экстракцией 95% этанолом методом мацерации.

Ключевые слова: экстракция, субкритическая вода, этанольный экстракт, розмарин, розмариновая кислота, ГХ-МС.

Для цитирования: Вдовина Г.И., Павлова Л.В., Платонов И.А., Куркин В.А. ГХ-МС исследование субкритических водных и этанольных экстрактов листьев розмарина (*Rosmarinus officinalis L.*) // Химия растительного сырья. 2024. №2. С. 320–328. DOI: 10.14258/jcprn.20240213180.

Введение

Розмарин в качестве специи при приготовлении пищи используется с давних времен. В настоящее время в контексте «зеленой химии» активно изучаются свойства растений, в том числе и розмарина. В связи с высоким содержанием эфирного масла экстракт розмарина широко применяется в качестве ароматической добавки в парфюмерной промышленности. Установлено, что кроме вкусо-ароматических свойств экстракты розмарина проявляют антиоксидантную активность, оказывают гепатопротекторное, противодиабетическое действие, обладают антимикробными свойствами. Эти свойства экстрактов розмарина легли в основу ряда исследований по разработке пищевых консервирующих добавок на основе розмарина. Активно развивается в настоящее время изучение растительных материалов на предмет противораковой активности. Установлено, что компоненты экстракта розмарина модулируют сигнальные пути при раковых заболеваниях крови, что дает плодотворный эффект в противораковой терапии. Все вышеуказанные свойства обусловлены компонентным составом розмарина, который содержит терпеновые соединения, фенолы, фенольные кислоты, флавоноиды. В состав розмарина входят калий, магний, фосфор, фтор, натрий, марганец, железо, цинк, медь, отмечено содержание витаминов РР, В, А, С. Наиболее эффективное извлечение компонентов растения осу-

* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprn.20240213180s

** Автор, с которым следует вести переписку.

ществляется в суб- и сверхкритических условиях диоксидом углерода, водой с применением различных модификаторов. Таким образом, совершенствование технологии экстракции из розмарина, изучение компонентного состава экстрактов является необходимым этапом развития «зеленых» технологий [1–16]. Цель данной работы – оценка эффективности экстракции компонентов розмарина субкритической водой в сравнении с экстракцией водно-этанольными смесями.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования использовали розмарин обыкновенный (*Rosmarinus officinalis L.*), производства ООО «Новосибирский пищевой комбинат», приобретенный в аптечной сети.

Приготовление экстрактов. Во всех экспериментах по экстракции соотношение сырье-экстрагент было постоянным: навеска розмарина 3.05 ± 0.05 г и объем экстрагента 25 см^3 . В качестве экстрагентов использовали водно-этанольные смеси с содержанием этанола 95, 70, 50, 10% и водой при температурах 100, 130 и 150 °С. Экстракцию водно-этанольными смесями проводили методом мацерации при температуре 25 °С в течение 7 суток и при температуре 80 °С с обратным холодильником в течение 2 ч.

Экстракцию субкритической водой проводили в динамическом режиме на установке, собранной на кафедре химии [17]. Для проведения экстракции в качестве лекарственного растительного сырья использовали листья розмарина, их навеску смешивали с таким же объемом гранулированного карбида кремния (размер гранул 2×3 мм). Давление в течение процесса экстракции поддерживалось на уровне 5 ± 0.1 МПа для поддержания воды в жидком состоянии, поток экстрагента составлял $1.7 \text{ см}^3/\text{мин}$. Экстракты отбирали с момента выхода системы на заданную температуру фракциями по 5 см^3 . Объем экстрагента, пропущенного через систему, составлял 25 см^3 .

Анализ методом хромато-масс-спектрометрии. Идентификацию компонентов проводили методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС) на хромато-масс-спектрометре Agilent Technologies 7890A-5975C. HP5-ms ($30 \times 0.25 \text{ мм} \times 0.25 \text{ мкм}$). Условия анализа: термостат колонок – 50 °С (0.5 мин), нагрев до 100 °С со скоростью 75 °С/мин (1 мин), нагрев до 300 °С со скоростью 15 °С/мин (25 мин); температура испарителя – 280 °С; температура переходной линии – 280 °С; газ-носитель – гелий; режим программируемого давления – 14.652 psi (18 мин), затем со скоростью 5 psi/мин 22.652 psi; деление потока – 1 : 10; объем пробы – 1 мкл; температура ионного источника – 230 °С; температура квадруполя – 150 °С; энергия ионизации – 70 эВ; задержка на выход растворителя – 3 мин; диапазон сканирования – 45–700 а.е.м. Идентификация веществ осуществлялась по библиотекам масс-спектров NIST 11, Wiley 11 с учетом индексов удерживания. Экстракты анализировали прямым вводом, а также после проведения переэкстракции этилацетатом при pH=2, pH=7 и pH=9 с последующей дериватизацией сухого остатка N,O-бистриметилсилилтрифторацетамидом (БСТФА) при 80 °С в течение 20 мин в герметичной вials. Объем вводимой пробы – 1 мкл.

Обсуждение результатов

При прямом ГХ-МС анализе экстрактов розмарина, полученных с помощью воды и водно-этанольных смесей, идентифицировано 36 летучих органических соединений (ЛОС). Сравнительный анализ интенсивности пиков, а также числа детектируемых компонентов на хроматограммах исследуемых экстрактов показал, что водно-этанольные смеси лучше извлекают ЛОС. Доминирующими компонентами являются 1,8-цинеол, камфора, α -терпинеол, борнеол, тимол, борнил ацетат, β -кариофиллен оксид, α -пинен, β -пинен, мирцен (рис. 1 электронного приложения). Максимальное извлечение для 1,8-цинеола наблюдается при экстракции 95% этанолом, для камфоры – 50% этанолом. При сравнении площадей пиков ЛОС этанольных экстрактов и субкритических водных экстрактов можно отметить, что ЛОС извлекается водой в 4–10 раз меньше в зависимости от соединения. Свойства воды в субкритическом состоянии изменяются [18], но при исследуемых температурах экстракции неравнозначны свойствам водно-этанольных смесей, поэтому наблюдается существенная разница в составе этанольных и водных экстрактов (табл.). Качественный состав изученных в нашем исследовании экстрактов также отличается от состава ЛОС сверхкритического CO_2 -экстракта розмарина [15]. В таблице рядом с веществами, обнаруженными и в наших экстрактах, и описанными в различных публикациях, стоят соответствующие ссылки. Компоненты, приведенные в статьях [15, 19], такие как 3-октанон, сабинен, γ -кадинен, α -кубебен, β -кубебен, купарен, β -цедрен, кадален и абиетадиен, в нашем исследовании обнаружены не были. Это можно объяснить и разницей в полярности используемых экстрагентов, а также в происхождении сырья.

В количественном отношении извлекаемых ЛОС эфирного масла розмарина, а также фенольных соединений прослеживается закономерность: при повышении температуры экстракции увеличивается число и количество извлекаемых соединений. Аналогичная зависимость прослеживается для дитерпеновых соединений и флавоноидов [14].

Изучение динамики выхода ЛОС из растительной матрицы при динамической экстракции субкритической водой показало, что максимума извлечения достичь не удалось (рис. 1). Содержание ЛОС увеличивается по мере увеличения объема пропущенного экстрагента, при этом точка перегиба динамической кривой извлечения 1,8-цинеола и камфоры не была зафиксирована в условиях проведения экстракции. В отношении борнеола можно сказать о постоянстве концентрации в течение всего процесса динамической экстракции. Вероятно, это связано с плотной текстурой листьев розмарина, напоминающих иглы. Высокое давление и температура в этом случае постепенно разрушают клеточные структуры. Таким образом, извлечение компонентов из внутренних слоев листьев происходит ближе к концу процесса экстракции.

Компоненты, идентифицированные при ГХ-МС анализе экстрактов розмарина

№	Соединение	Прямой ГХ-МС анализ			ГХ-МС анализ после дериватизации		
		Вода 150 °С	Вода 130 °С	95% этанол	Вода 150 °С	Вода 130 °С	95% этанол
1	2	3	4	5	6	7	8
Терпеноиды							
1	1,8-цинеол [12, 15, 19]	+	+	+	+	+	+
2	4-терпинеол [19]	+	+	+	+	+	+
3	5,8-эпокси-15-нор-лабдан	+	+	+	-	+	+
4	α -пинен [12, 15, 19]	-	-	+	-	-	-
5	α -терпинеол [12, 15]	+	+	+	+	+	+
6	β -пинен [12, 15, 19]	-	-	+	-	-	-
7	β -эудесмол [12]	-	-	-	+	-	-
8	Борнеол [12, 15, 19]	+	+	+	+	+	+
9	Борнилацетат [12]	-	+	+	-	-	+
10	Вербенон [15, 19]	-	+	-	+	+	-
11	Витиспиран	+	-	-	-	-	-
12	Д-лимонен [12, 15, 19]	-	-	+	-	-	-
13	Камфен [12, 15, 19]	-	-	+	-	-	-
14	Камфора [12, 15, 19]	+	+	+	+	-	-
15	Кариофиллен [12, 15, 19]	-	+	+	-	-	-
16	Кариофиллен оксид [12]	-	+	+	-	-	-
17	Линалол [12, 15, 19]	-	-	+	-	-	-
18	Линалол оксид [12]	-	-	-	+	-	-
19	Мирцен	-	-	+	-	-	-
20	Сквален	-	-	-	-	+	-
21	Фенхол [12]	-	-	-	-	+	+
Флавоноиды							
22	4-гидрокси вогонин	-	-	+	-	-	-
Ароматические соединения							
23	4-этилкатехол	-	-	-	+	-	-
24	Гидрохинон	+	+	-	-	-	-
25	<i>o</i> -гидроксианизол	+	+	-	-	-	-
26	<i>n</i> -Винилгваякол	+	+	+	-	-	-
27	Пирокатехин	-	+	-	-	-	-
28	Сирингол	+	+	-	-	-	-
29	Тирозол	-	-	-	+	+	-
30	Цимол [15, 19]	+	+	+	-	+	+
31	Дегидробензол	+	-	-	-	-	-
Сложные эфиры							
32	Олеан-12-ен-3-ил ацетат	-	-	+	-	-	-
33	Катехоллактат	-	-	-	+	+	-
34	Катехолпируват	-	-	-	+	-	-

Окончание таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8
Углеводы							
35	D-маннопираноза	-	-	-	+	+	+
36	D-фруктоза	-	-	-	+	+	+
37	β -D-галактофураноза	-	-	-	-	+	+
38	Арабиноза	-	-	-	+	+	-
39	Глюкоза	-	-	-	+	-	-
40	Глюкофураноза	-	-	-	+	-	-
41	Левоглюкозан	-	-	+	-	+	-
42	Мальтоза	-	-	-	+	-	-
43	Рафиноза	-	-	-	+	+	+
44	Сахароза	-	-	-	+	-	-
45	Этил α -ди-глюкопиранозид	-	+	-	-	-	-
Карбоновые кислоты							
46	11,13-дигидрокситетрадец-5-иновая кислота	-	-	-	+	-	-
47	α -гидрокси масляная кислота	-	-	-	-	+	+
48	α -кетоглутаровая кислота	-	-	-	+	+	-
49	Адипиновая кислота	-	-	-	+	-	-
50	Азелаиновая кислота	-	-	-	-	-	+
51	Акриловая кислота	-	-	-	+	-	-
52	Арахидоновая кислота	-	-	-	+	+	+
53	Винная кислота	-	-	-	+	-	-
54	Гидроксокофейная кислота	-	-	-	-	+	-
55	Глутаровая кислота	-	-	-	+	+	+
56	Глюконовая кислота	-	-	-	-	+	+
57	D-арабинозовая кислота	-	-	-	-	+	+
58	Камфорная кислота	-	-	-	-	+	-
59	Каприловая кислота	-	-	-	-	+	-
60	Капроновая кислота	-	-	-	+	+	+
61	Кетозиокапроновая кислота	-	-	-	-	+	-
62	Лимонная кислота	-	-	-	+	+	-
63	Малоновая кислота	-	-	-	+	+	+
64	Мезаконовая кислота	-	-	-	-	+	-
65	Миристиновая кислота	-	-	-	+	-	-
66	Молочная кислота	-	-	-	+	+	+
67	Олеиновая кислота	-	-	-	-	-	+
68	Ортофосфорная кислота	-	-	-	+	-	-
69	Пальмитиновая кислота	-	+	-	+	+	+
70	Пальмитолеиновая кислота	-	-	-	+	-	-
71	Пеларгоновая кислота	-	-	-	-	+	+
72	Пировиноградная кислота	-	-	-	-	-	-
73	Пропионовая кислота	-	-	-	+	+	+
74	Стеариновая кислота	-	-	-	+	+	+
75	Субериновая кислота	-	-	-	-	+	-
76	Треоновая кислота	-	-	-	-	-	-
77	Уксусная кислота	-	-	-	+	+	+
78	Фумаровая кислота	-	-	-	+	+	-
79	Хинная кислота	-	-	-	+	-	-
80	Яблочная кислота	-	-	-	+	-	-
81	Янтарная кислота	-	-	-	+	+	+
Фенолкарбоновые кислоты							
82	Бензойная кислота	-	-	-	-	+	+
83	Коричная кислота	-	-	-	+	+	-
84	Кофейная кислота [4]	-	-	-	+	+	+
85	Розмариновая кислота	-	-	-	+	+	+
86	Фенилуксусная кислота	-	-	-	-	+	-
87	Феруловая кислота [4]	-	-	-	-	+	-
Спирты							
88	Глицерин	-	-	-	+	+	+
Аминокислоты							
89	L-пролин	-	-	-	+	-	-

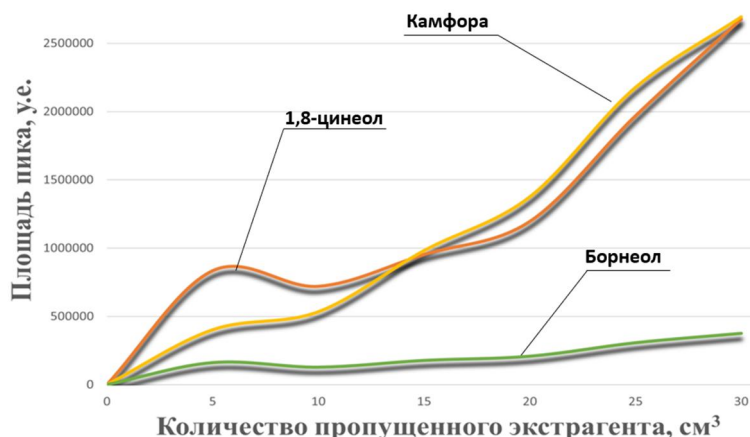


Рис. 1. Динамические кривые извлечения 1,8-цинеола, камфоры и борнеола в процессе экстракции субкритической водой

После проведения дериватизации экстрактов с помощью БСТФА число детектируемых компонентов на хроматограммах увеличилось почти в 3 раза. При этом было идентифицировано порядка 100 соединений (рис. 2 электронного приложения, табл.). На рисунке 2 в электронном приложении приведены хроматограммы дериватизированных экстрактов, полученных с помощью субкритической воды и 95% этанола после проведения дериватизации.

Визуальное сравнение хроматограмм и оценка площадей пиков показали, что максимальное число компонентов экстрагируется субкритической водой. При этом на хроматограммах заметна разница качественного состава субкритических водных и этанольных экстрактов. Среди идентифицированных соединений карбоновые кислоты (янтарная, глутаровая, лимонная), фенольные кислоты (кофейная, коричная, феруловая, бензойная, хинная), ароматические соединения, включая фенолы и углеводы. Все эти соединения, за исключением кофейной и феруловой кислоты [4], ранее описаны не были, это связано с тем, что данные нелетучие органические соединения трудно обнаружить методом ГХ-МС без дериватизации. Все идентифицированные соединения наиболее результативных экстрактов приведены в таблице.

На хроматограмме дериватизированного субкритического водного экстракта розмарина (рис. 2а электронного приложения) выделяется пик с временем удерживания 25.08 мин, он идентифицируется по библиотекам масс-спектров как триметилсилильное (ТМС) производное кофейной кислоты, поскольку анализ экстрактов проводили с дериватизацией БСТФА. Обзор публикаций по исследованию компонентного состава листьев розмарина указывает, что кофейная кислота присутствует в составе, но не является доминирующим соединением [4, 6]. При этом упоминается, что розмариновая кислота присутствует в значительных количествах. Розмариновая кислота является димером кофейной кислоты, и можно было бы предположить, что при субкритической экстракции водой при повышенных температурах и давлении происходит гидролиз розмариновой кислоты, но этому противоречит факт нахождения подобного соединения в этанольных экстрактах розмарина. К тому же на хроматограмме обнаружен еще один пик ТМС производного кофейной кислоты с временем удерживания 12.92 мин. В обоих вариантах идентификации совпадение масс-спектров с библиотечными порядка 90–99%, однако на масс-спектре вещества с временем удерживания 25.08 мин присутствует интенсивный пик с $m/z=179$, которого нет на библиотечном масс-спектре ТМС кофейной кислоты. При этом сильно различаются индексы удерживания рассматриваемых соединений. Вещество с временем удерживания 12.92 мин имеет индекс удерживания 2157, вещество с временем удерживания 25.08 мин имеет индекс удерживания более 3500, точнее определить не удалось. Согласно данным библиотеки NIST 11, индекс удерживания ТМС производного кофейной кислоты от 1972 до 2143 по разным источникам. Нужно отметить, что при анализе соединений с несколькими центрами присоединения ТМС-группы возможен выход одного соединения несколькими пиками за счет разного количества присоединенных ТМС групп. В нашем случае соединение с временем удерживания 12.92 мин идентифицируется с присоединением ТМС групп по всем возможным активным центрам, поэтому позже аналогичное вещество выходить не может. Также поиск масс-спектра розмариновой кислоты по библиотекам масс-спектров в программе обработки данных нашего хромато-масс-спектрометра не дал результатов ввиду вероятного его отсутствия в

библиотеках. Однако в источнике [20] был обнаружен масс-спектр розмариновой кислоты, полученный в аналогичных нашим условиям ионизации (рис. 2а). На рисунке 2б представлен масс-спектр, полученный при анализе наших экстрактов, он отличается от опубликованного в [20] только наличием пиков, соответствующих ТМС ионам, на обоих масс-спектрах наблюдается пик с $m/z=179$. Кроме того, был проведен дополнительный анализ метанольного экстракта Melissa лекарственной, которая также содержит розмариновую кислоту, и на полученных хроматограммах присутствовало вещество с временем удерживания 25.08 мин с аналогичным масс-спектром. Руководствуясь вышесказанным, можно с большой долей вероятности утверждать, что в полученных нами экстрактах – как субкритических водных, так и этанольных присутствует розмариновая кислота. Сравнивая площади пиков на хроматограммах исследуемых экстрактов, можно сделать вывод, что максимальное содержание розмариновой кислоты соответствует субкритическому водному экстракту, полученному при 150 °С.

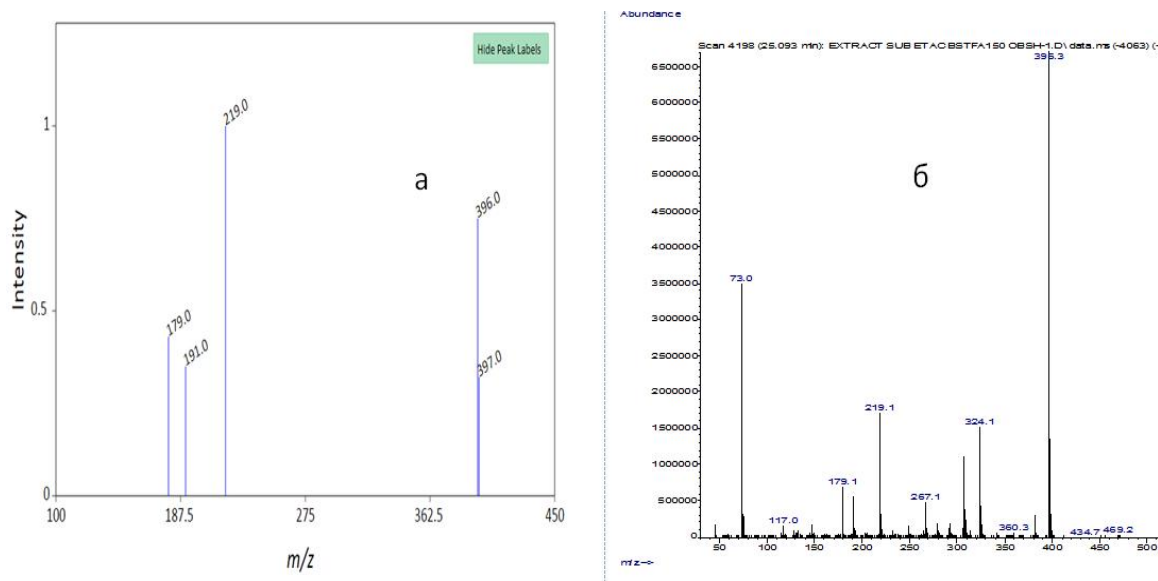


Рис. 2. Масс-спектры розмариновой кислоты: а – масс-спектр розмариновой кислоты [20], б – масс-спектр предположительно ТМС производного розмариновой кислоты, полученный при анализе исследуемых экстрактов

Наличие в субкритическом водном экстракте ортофосфорной кислоты может свидетельствовать о гидролизе молекул АТФ в структуре клеток при температуре 150 °С. Также интересно обнаружение тирозола, который еще называют ауолом, он, по данным Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова, является «аналогом действующего начала родиолы розовой..., обладает адаптогенными и стимулирующими свойствами». Ранее тирозол не упоминался в качестве компонента листьев розмарина. Некоторые компоненты, такие как 4-винил-сирингол, 4-винил-фенол, гомованилиновая кислота извлекаются только 70 и 50% этанолом (с использованием обратного холодильника); 5-оксиметилфурфурол, лютеолин – 50% этанолом; лимонен – 10% этанолом (мацерация). Хинная кислота извлекается 10, 50 и 70% этанолом и субкритической водой при 150 °С. Отмечено, что с повышением температуры экстракции водой увеличивается число извлекаемых фенольных соединений.

Выводы

В результате проделанной работы в экстрактах листьев розмарина методом ГХ-МС идентифицировано около 100 компонентов. Основными ЛОС экстрактов розмарина являются 1,8-цинеол, камфора, α -терпинеол, борнеол, тимол, борнил ацетат, β -кариофиллен оксид, α -пинен, β -пинен, мирцен. Для экстракции ЛОС из листьев розмарина целесообразнее применять 95% раствор этанола в воде. Для экстракции нелетучих соединений из листьев розмарина предпочтение лучше отдать субкритической водной экстракции при температуре 150 °С. Доминирующими нелетучими компонентами всех экстрактов являются фенольные соединения и карбоновые кислоты, а в субкритических водных экстрактах – розмариновая кислота. Максимальное извлечение розмариновой кислоты происходит при экстракции субкритической водой при 150 °С.

По числу извлекаемых соединений эффективность экстракции субкритической водой при температуре 130 °С в динамическом режиме сопоставима с экстракцией 95% этанолом в стандартных статических условиях. С повышением температуры процесса динамической экстракции водой эффективность извлечения нелетучих компонентов увеличивается. Все вышеприведенные факты позволяют говорить о целесообразности использования субкритических водных экстрактов розмарина в качестве источника биологически активных соединений.

Дополнительная информация

В электронном приложении к статье (DOI: <http://www.doi.org/10.14258/jcprtm.20240213180s>) приведен дополнительный экспериментальный материал, раскрывающий основные положения, изложенные в статье.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке средств финансирования Программы развития Самарского университета на 2021–2030 годы в рамках программы «Приоритет-2030».

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Климова Е.В. Оценка антибактериальной активности экстрактов розмарина против различных видов р. *Listeria* и штаммов *Listeria monocytogenes*, загрязняющих продукты питания // Пищевая и перерабатывающая промышленность. Реферативный журнал. 2010. №1. С. 198.
2. Тохсырова З.М., Никитина А.С., Попова О.И. Изучение антимикробного действия эфирного масла из побегов розмарина лекарственного (*Rosmarinus officinalis* L., Lamiaceae) // Фармация и фармакология. 2016. Т. 4, №1. С. 66–71. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-1(14)-66-71.
3. Borrás-Linares I., Stojanović Z., Quirantes-Piné R., Arraez-Roman D., Švarc-Gajić J., Fernandez-Gutierrez A., Segura-Carretero A. Rosmarinus Officinalis Leaves as a Natural Source of Bioactive Compounds // International Journal of Molecular Science. 2014. Vol. 15, no. 11. Pp. 20585–20606. DOI: 10.3390/ijms151120585.
4. Тохсырова З.М., Попов И.В., Попова О.И. Исследование фенольных соединений листьев и побегов розмарина лекарственного (*Rosmarinus officinalis* L.), интродуцированного в ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института // Химия растительного сырья. 2018. №3. С. 199–207. DOI: 10.14258/jcprtm.2018033733.
5. Зорин Е.Б., Сорокина А.А. Изучение эфирного масла розмарина лекарственного // Фармация. 2007. №6. С. 14–16.
6. Агафонова С.В., Байдалинова Л.С. Антиоксидантная активность СО₂-экстрактов некоторых растений и перспективы их использования в технологии пищевых рыбных жиров // Вестник Международной академии холода. 2015. №2. С. 13–17.
7. Pérez-Fons L., Garzón M.T., Micol V. Relationship between the antioxidant capacity and effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) polyphenols on membrane phospholipid order // J. Agric Food Chem. 2010. Vol. 58, no. 1. Pp. 161–171. DOI: 10.1021/jf9026487.
8. Almela L., Sánchez-Muñoz B., Fernández-López J.A., Roca M.J., Rabe V. Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material // Journal of Chromatography A. 2006. Vol. 1120, no. 1-2. Pp. 221–229. DOI: 10.1016/j.chroma.2006.02.056.
9. Sotelo-Felix J.I., Martinez-Fong D., Muriel P., Santillan R.L., Castillo D., Yahuaca P. Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat // Journal of Ethnopharmacology. 2002. Vol. 81, no. 2. Pp. 145–154. DOI: 10.1016/s0378-8741(02)00090-9.
10. Bakirel T., Bakirel U., Keles O.U., Ulgen S.G., Yardibi H. In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits // Journal of Ethnopharmacology. 2008. Vol. 116, no. 1. Pp. 64–73. DOI: 10.1016/j.jep.2007.10.039.
11. Холикназарова Ш.Р. Противоопухолевая активность лекарственных растений на основе химического состава // Экономика и социум. 2022. №12–1 (103). С. 1035–1038.
12. Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Jovin E. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007. Vol. 55, no. 19. Pp. 7879–7885. DOI: 10.1021/jf0715323.
13. Petiwala S.M., Johnson J.J. Diterpenes from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Defining their potential for anti-cancer activity // Cancer Lett. 2015. Vol. 367, no. 2. Pp. 93–102. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.005.

14. Ibañez E., Kubátová A., Señoráns F.J., Cavero S., Reglero G., Hawthorne S.B. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary plants // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003. Vol. 51, no. 2. Pp. 375–382. DOI: 10.1021/jf025878j.
15. Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibañez E., Señoráns F.J., Reglero G. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction // *Journal of Food Protection*. 2005. Vol. 68, no. 4. Pp. 790–795. DOI: 10.4315/0362-028x-68.4.790.
16. Moore J., Yousef M., Tsiani E. Anticancer Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract and Rosemary Extract Polyphenols // *Nutrients*. 2016. Vol. 8, no. 11. P. 731. DOI: 10.3390/nu8110731.
17. Платонов И.А., Павлова Л.В., Новикова Е.А., Никитченко Н.В., Рошупкина И.Ю. Извлечение биологически активных соединений из лекарственного растительного сырья экстрагентами в субкритическом состоянии // *Физикохимия поверхности и защита материалов*. 2014. Т. 50, №6. С. 633–639. DOI: 10.7868/S0044185614060175.
18. Uematsu M., Franck E.U. Static Dielectric Constant of Water and Steam // *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. 1980. Vol. 9, no. 4. Pp. 1291–1306. DOI: 10.1063/1.555632.
19. Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibañez E., Señoráns F.J., Reglero G. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Obtained via Supercritical Fluid Extraction // *Journal of Food Protection*. 2005. Vol. 68, no. 4. Pp. 790–795. DOI: 10.4315/0362-028X-68.4.790.
20. Rosmarinic acid, GC-MS [Электронный ресурс]. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rosmarinic-acid#section=GC-MS>.

Поступила в редакцию 28 июня 2023 г.

После переработки 1 ноября 2023 г.

Принята к публикации 14 ноября 2023 г.

Vdovina G.I.^{1*}, Pavlova L.V.¹, Platonov I.A.¹, Kurkin V.A.² A STUDY OF SUBCRITICAL WATER AND ETHANOLIC EXTRACTS OF ROSEMARY LEAVES (*ROSMARINUS OFFICINALIS* L.) BY GC-MS

¹ Samara State National Research University named after Academician S.P. Korolev, Moskovskoe shosse, 34, Samara, 443086, Russia, galina-vdovina@mail.ru

² Samara State Medical University, Chapaevskaya st., 89, Samara, 443099, Russia

Extraction of biologically active substances from the leaves of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) is carried out by solutions of ethanol in water with 95, 70, 50, 10% ethanol concentration by maceration, as well as by boiling under reflux using hot water and subcritical water at the temperature 130, 150 °C and a pressure of 5±0.1 MPa in dynamic mode.

The extracts were analyzed by gas chromatography with mass spectrometric detection by direct injection, as well as after derivatization with N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide. About 100 components have been identified in rosemary leaf extracts, phenolic compounds and carboxylic acids are dominant. The main volatile organic compounds (VOCs) are terpenoids: α -terpineol, borneol, camphor, α -pinene, β -pinene, myrcene, aromatic compounds: p-vinyl guaiacol, cymene. The dominant non-volatile components of all extracts include phenolcarboxylic acids: rosmarinic acid, caffeic acid, benzoic acid, carboxylic acids: malonic acid, caproic acid, glutaric acid, palmitic acid, and carbohydrates: raffinose, D-mannopyranose, D-fructose. As the temperature of the dynamic water extraction process increases, the extraction efficiency of non-volatile components increases. In terms of the number of extracted compounds, the efficiency of extraction with subcritical water is comparable to extraction with 95% ethanol concentration by the maceration method.

Keywords: extraction, subcritical water, water-ethanol extract, rosemary, GC-MS.

For citing: Vdovina G.I., Pavlova L.V., Platonov I.A., Kurkin V.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 2, pp. 320–328. (in Russ.). DOI: 10.14258/jepm.20240213180.

References

1. Klimova Ye.V. *Pishchevaya i pererabatyvayushchaya promyshlennost'. Referativnyy zhurnal*, 2010, no. 1, p. 198. (in Russ.).
2. Tokhsyrova Z.M., Nikitina A.S., Popova O.I. *Farmatsiya i farmakologiya*, 2016, vol. 4, no. 1, pp. 66–71. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-1(14)-66-71. (in Russ.).
3. Borrás-Linares I., Stojanović Z., Quirantes-Piné R., Arraez-Roman D., Švarc-Gajić J., Fernandez-Gutierrez A., Segura-Carretero A. *International Journal of Molecular Science*, 2014, vol. 15, no. 11, pp. 20585–20606. DOI: 10.3390/ijms151120585.

* Corresponding author.

4. Tokhsyrova Z.M., Popov I.V., Popova O.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2018, no. 3, pp. 199–207. DOI: 10.14258/jcprm.2018033733. (in Russ.).
5. Zorin Ye.B., Sorokina A.A. *Farmatsiya*, 2007, no. 6, pp. 14–16. (in Russ.).
6. Agafonova S.V., Baydalina L.S. *Vestnik Mezhdunarodnoy akademii kholoda*, 2015, no. 2, pp. 13–17. (in Russ.).
7. Pérez-Fons L., Garzón M.T., Micol V. *J. Agric Food Chem.*, 2010, vol. 58, no. 1, pp. 161–171. DOI: 10.1021/jf9026487.
8. Almela L., Sánchez-Muñoz B., Fernández-López J.A., Roca M.J., Rabe V. *Journal of Chromatography A*, 2006, vol. 1120, no. 1-2, pp. 221–229. DOI: 10.1016/j.chroma.2006.02.056.
9. Sotelo-Felix J.I., Martinez-Fong D., Muriel P., Santillan R.L., Castillo D., Yahuaca P. *Journal of Ethnopharmacology*, 2002, vol. 81, no. 2, pp. 145–154. DOI: 10.1016/s0378-8741(02)00090-9.
10. Bakirel T., Bakirel U., Keles O.U., Ulgen S.G., Yardibi H. *Journal of Ethnopharmacology*, 2008, vol. 116, no. 1, pp. 64–73. DOI: 10.1016/j.jep.2007.10.039.
11. Kholiknazarova Sh.R. *Ekonomika i sotsium*, 2022, no. 12–1 (103), pp. 1035–1038. (in Russ.).
12. Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Jovin E. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, vol. 55, no. 19, pp. 7879–7885. DOI: 10.1021/jf0715323.
13. Petiwala S.M., Johnson J.J. *Cancer Lett.*, 2015, vol. 367, no. 2, pp. 93–102. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.005.
14. Ibañez E., Kubátová A., Señoráns F.J., Cavero S., Reglero G., Hawthorne S.B. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, vol. 51, no. 2, pp. 375–382. DOI: 10.1021/jf025878j.
15. Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibañez E., Señoráns F.J., Reglero G. *Journal of Food Protection*, 2005, vol. 68, no. 4, pp. 790–795. DOI: 10.4315/0362-028x-68.4.790.
16. Moore J., Yousef M., Tsiani E. *Nutrients*, 2016, vol. 8, no. 11, p. 731. DOI: 10.3390/nu8110731.
17. Platonov I.A., Pavlova L.V., Novikova Ye.A., Nikitchenko N.V., Roshchupkina I.Yu. *Fizikokhimiya poverkhnosti i zashchita materialov*, 2014, vol. 50, no. 6, pp. 633–639. DOI: 10.7868/S0044185614060175. (in Russ.).
18. Uematsu M., Franck E.U. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 1980, vol. 9, no. 4, pp. 1291–1306. DOI: 10.1063/1.555632.
19. Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibañez E., Señoráns F.J., Reglero G. *Journal of Food Protection*, 2005, vol. 68, no. 4, pp. 790–795. DOI: 10.4315/0362-028X-68.4.790.
20. *Rosmarinic acid, GC-MS*. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rosmarinic-acid#section=GC-MS>.

Received June 28, 2023

Revised November 1, 2023

Accepted November 14, 2023

Сведения об авторах

Вдовина Галина Ильинична – студентка,
galina-vdovina@mail.ru

Павлова Лариса Викторовна – заведующий
лабораторией кафедры химии, кандидат химических
наук, доцент, pavlova.lv@ssau.ru

Платонов Игорь Артемьевич – заведующий кафедрой
химии, доктор технических наук, профессор,
platonov.ia@ssau.ru

Куркин Владимир Александрович – заведующий
кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами
фитотерапии, доктор фармацевтических наук,
профессор, kurkinvladimir@yandex.ru

Information about authors

Vdovina Galina Ilyinichna – student,
galina-vdovina@mail.ru

Pavlova Larisa Viktorovna – Head of the laboratory of the
Department of Chemistry, Candidate of Chemical Sciences,
Associate Professor, pavlova.lv@ssau.ru

Platonov Igor Artemyevich – Head of the Department of
Chemistry, Doctor of Technical Sciences, Professor,
platonov.ia@ssau.ru

Kurkin Vladimir Aleksandrovich – Head of the Department
of Pharmacognosy with Botany and Basics of Herbal
Medicine, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor,
kurkinvladimir@yandex.ru