

УДК 581.13:633.81

ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРИВИДОВОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ЭФИРНОГО МАСЛА У ДУШИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*ORIGANUM VULGARE L.*)

© Ф.М. Хазиева^{1*}, В.И. Осипов^{1,2}, И.Н. Коротких¹

¹Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений,
ул. Грина, 7, Москва, 117216 (Россия), e-mail: vilar.6@yandex.ru

²Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва,
117198 (Россия)

Исследовали внутривидовую изменчивость соединений эфирного масла (ЭМ) в растениях душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*). С этой целью определяли общее содержание ЭМ, а также состав и содержание индивидуальных соединений ЭМ у трех сортов и шести клонов душицы, полученных в ходе селекционной работы и отличающихся по морфологическим признакам (высота и форма растения, окраска цветков). Используя метод газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрической регистрацией (ГХ-МС), в образцах ЭМ обнаружили 120 индивидуальных соединений, 60 из которых были идентифицированы. Терпинен-4-ол (16,4%), β-кариофиллен (12,4%), гермакрен D (9,7%), кариофиллен оксид (8,2%), спатуленол (7,7%), α-кадинол (6,0%), γ-терпинен (2,9%), α-кадинол (2,8%), α-гумулен (2,2%), δ-кадинен (1,9%) и α-терpineол (1,7%) были основными соединениями ЭМ душицы обыкновенной, произрастающей в Московской области. На долю этих соединений приходится 71,9% общего содержания ЭМ. Используя методы многомерной статистики для анализа ГХ-МС данных, образцы душицы разделили на две группы: с высоким и низким содержанием ЭМ. Определены индивидуальные соединения-маркеры ЭМ, которые определяют различие этих групп. Показано существование положительной связи между высоким содержанием ЭМ и компактной, низкорослой формой растений душицы обыкновенной.

Ключевые слова: душица обыкновенная, эфирное масло, хемотип, газожидкостная хроматография, масс-спектрометрия.

Введение

Препараты из многолетнего травянистого растения душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*) широко используют в медицинской практике как антибактериальные, противовоспалительные и седативные средства [1, 2]. Экстракт травы входит в состав комплексного препарата «Уролесан», который, кроме выше указанных свойств, обладает спазмолитическим и желчегонным действием и предупреждает развитие таких заболеваний, как цистопиелит и пиелонефрит [3].

Наряду с экстрактами и настоями широко используется эфирное масло (ЭМ) душицы обыкновенной. Предполагается, что его антиоксидантная и противораковая активность обусловлена присутствием в масле β-оцимола, карвакрола и тимола [2]. Кроме того, в косметической и пищевой промышленности ЭМ душицы обыкновенной используется для ароматизации напитков и консервации продуктов. При этом ЭМ рассматривают как альтернативу синтетическим медикаментам и консервантам в связи с побочными действиями последних.

При изучении ЭМ душицы обыкновенной разного происхождения в его составе было обнаружено от

Хазиева Фирдаус Мухаметовна – кандидат биологических наук, заведующая отделом агробиологии и селекции, e-mail: vilar.6@yandex.ru
Осипов Владимир Ионович – доктор биологических наук, главный научный сотрудник; заведующий лабораторией метаболомики, e-mail: vilar.6@yandex.ru
Коротких Ирина Николаевна – старший научный сотрудник отдела агробиологии и селекции, e-mail: vilar.6@yandex.ru

40 до 155 индивидуальных соединений, из них были идентифицированы от 36 до 70 соединений [4–9]. По данным разных авторов главными компонентами ЭМ душицы обыкновенной были сабинен, линалоол, терпинен-4-ол, β-кариофиллен, кариофиллен эпоксид, гермакрен-D, β-оцимол, тимол, карвакрол, спатуленол, β-бисаболен и цинеол [4–9].

* Автор, с которым следует вести переписку.

В настоящее время одним из направлений селекции лекарственных растений является получение культур с высоким содержанием важных фармакологически активных соединений. Экспериментально показано, что продуктивные хемотипы растений могут быть получены методом клоновой селекции [10]. В данной работе проводили изучение внутривидовой изменчивости соединений эфирного масла (ЭМ) душицы обыкновенной как основы для дальнейшей селекционной работы. С этой целью определяли общее содержание ЭМ, а также состав и содержание индивидуальных соединений ЭМ у трех сортов и шести клонов душицы, полученных в ходе селекции и отличающихся по морфологическим признакам (высота и форма растения, окраска цветков).

Объект и методы исследования

Объект исследований. Состав и содержание эфирного масла (ЭМ) исследовали у 3 сортов и 6 клонов душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*), произрастающих в Московской области (табл. 1). ЭМ получали методом пародистилляции из образцов воздушно-сухого сырья душицы весом 25 г. Время отгонки 2 ч, в соответствии с XI Государственной фармакопеей. Содержание ЭМ определяли в мг/г. Выделение ЭМ у трех сортов (Радуга, Славница и Зима) и двух клонов (32-05 и 12-06) осуществляли в двух повторностях (табл. 1). В результате общее число анализируемых образцов ЭМ было 14.

Подготовка образцов ЭМ душицы для анализа методом ГХ-МС. 30 μ л образца ЭМ помещали во флаконы на 2 мл для автоматического пробоотборника, добавляли 970 μ л гексана, содержащего внутренний стандарт нафталин (0,2 мг/мл), герметично закрывали крышками с тефлоновой мембраной и тщательно перемешивали.

ГХ-МС анализ ЭМ. Анализ ЭМ осуществляли с помощью ГХ-МС системы (Perkin-Elmer GC AutoSystem XL с TurboMass Gold квадрупольным масс-спектрометром). Использовали капиллярную колонку (PE-5MS, 30 м, 0,25 мм, толщина слоя 0,25 μ м, Perkin-Elmer) и гелий в качестве газа-носителя со скоростью потока 1,0 мл/мин. Образец раствора масла в гексане объемом 1–3 μ л вводили при разделении потока 1/20. Температура инжектора – 260 °C, линии соединения ГХ и МС – 260 °C, МС источника – 220 °C. Начальная температура хроматографической колонки 50 °C держится 5 мин с последующим увеличением температуры до 260 °C со скоростью 5 °C в мин. Далее температура остается постоянной в течение 3 мин. Общее время ГХ-МС анализа – 35 мин. Масс-спектрометр функционировал по методу электронной ионизации (EI+). Начало сканирования – через 5 мин после введения образца, скорость сканирования – 3 скана/сек, диапазон m/z сканирования 40–450.

Идентификация ЭМ. Для идентификации ЭМ готовили стандартный образец, который представляет собой смесь растворов ЭМ в гексане всех девяти образцов душицы обыкновенной (по 0,1 мл каждого). ГХ-МС хроматограмму стандартного образца ЭМ анализировали с помощью программы AMDIS (Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System), которая позволяет определить масс-спектры индивидуальных соединений даже в случае неполного хроматографического разделения соединений. Для масс-спектрометрической идентификации зарегистрированных соединений использовали программу NIST Mass Spectral Search, v. 2 и базы ГХ-МС данных NIST-2008 (www.nist.gov). Кроме того, использовали значения индексов удерживания (ИУ) соединений, которые рассчитывали по результатам анализа стандартов углеводородов (C₈–C₂₀ и C₁₀–C₄₀, Fluka) [11]. ИУ соединений ЭМ душицы обыкновенной сравнивали с ИУ известных соединений из баз МС данных (NIST-2008, GMD и MassFinder's RI Guide, http://massfinder.com/wiki/Retention_index_guide) или опубликованных в литературе [6, 9, 12, 13]. Соединение считали идентифицированным, если совпадение его масс-спектра с масс-спектром стандарта из базы данных было более 80% и различие в значении ИУ – менее 3 единиц. Соединение не считали идентифицированным, если один из используемых параметров отсутствовал или не соответствовал заданным ограничениям.

Определение количества ЭМ. Время удерживания зарегистрированных индивидуальных соединений ЭМ, полученных в результате ГХ-МС анализа стандартного образца, использовали в методе автоматического определения площади пиков как суммы всех зарегистрированных масс соединения (TIC) (программа TurboMass Gold V.4.3, Perkin-Elmer). Полученные результаты экспортировали в Excel, нормализовали относительно площади пика внутреннего стандарта и относительное содержание соединений ЭМ рассчитывали в процентах от суммы площадей всех пиков. Далее, зная общее содержание ЭМ в каждом из сортов (клонов), относительные данные для каждого соединения пересчитывали в мг на 1 г образца.

Анализ данных. Полученные результаты экспортировали в пакет программ для статистического анализа SIMCA-P+ (версия 12, Umetrics, Umeo, Sweden) и анализировали методами многомерной статистики [14, 15]. Данные по содержанию индивидуальных соединений ЭМ в образцах подвергали нормализации (Log2) и масштабированию (Pareto-scaled). Статистическую значимость данных многомерного анализа оценивали методом CV-ANOVA (Analysis of variance of Cross-Validated predictive residuals) [15].

Результаты и обсуждение

Определение общего содержания ЭМ в образцах душицы обыкновенной показало, что оно варьирует от 1,0 до 8,8 мг/г воздушно-сухого сырья душицы (табл. 1).

При изучении состава ЭМ душицы обыкновенной методом ГХ-МС обнаружено 120 индивидуальных соединений (рис. 1). Идентификацию соединений проводили, сравнивая их масс-спектры и индексы удерживания с масс-спектрами и индексами удерживания известных соединений из баз данных (NIST-08, MassFinder's RI Guide) или опубликованных в литературе [6, 9, 13]. В результате 60 соединений ЭМ душицы были идентифицированы (табл. 2).

Таблица 1. Морфологические признаки и общее содержание эфирного масла (ЭМ) в образцах душицы обыкновенной, культивируемой в Московской области

Образец №	Код	Сорт или номер клона	Морфологические признаки		Содержание ЭМ, мг/г
			Рост растения*	Окраска цветков	
1	O1	Радуга	В	Бело-розовая	2,23
2	O1a	Радуга	В	Бело-розовая	1,00
3	O2	Славница	Н	Розовая	4,88
4	O2a	Славница	Н	Розовая	4,71
5	O3	16-05	В	Розовая	2,19
6	O4	Зима	Ср	Белая	2,46
7	O4a	Зима	Ср	Белая	2,61
8	O5	2-5	В	Белая	2,36
9	O6	31-05	В	Бело-розовая	3,81
10	O7	32-05	Ср	Бело-розовая	1,61
11	O7a	32-05	Ср	Бело-розовая	1,63
12	O8	12-06	Н	Розовая	8,79
13	O8a	12-06	Н	Розовая	7,60
14	O9	38-05	Н	Бело-розовая	3,78

*Рост растения: В – высокий, Ср – средний и Н – низкий

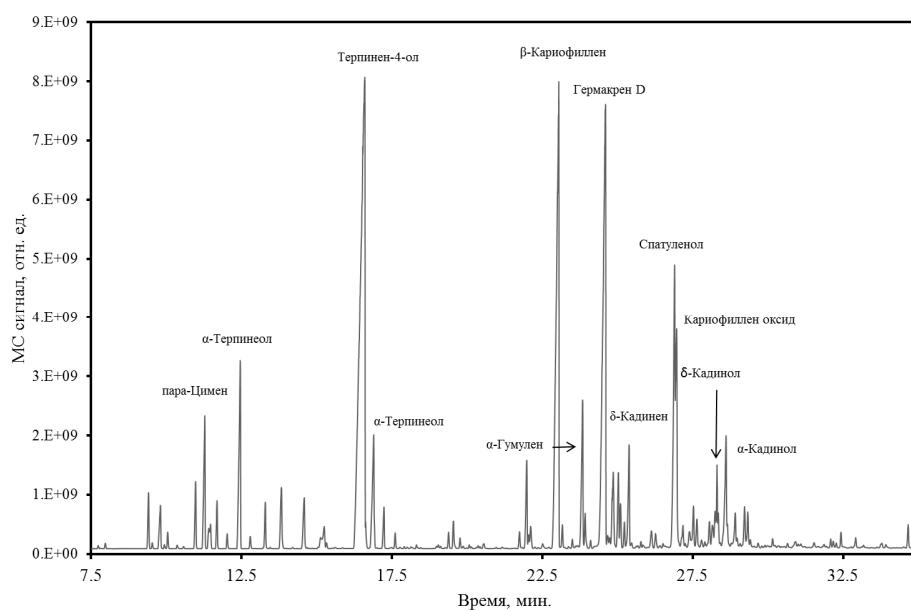


Рис. 1. ГХ-МС профиль стандартного образца эфирного масла душицы обыкновенной

Таблица 2. Среднее содержание идентифицированных соединений ЭМ душицы обыкновенной, произрастающей в Московской области, и коэффициент вариации соединений (КВ).
 КВ, % = Стандартное отклонение / Среднее содержание · 100

№	Линейный индекс удерживания	Название соединения	Среднее содержание		Коэффициент вариации, %
			мг/г	%	
1	2	3	4	5	6
1	925	α-Туйен	0,001	0,030	171
2	930	α-Пинен	0,002	0,070	183
3	970	Сабинен	0,033	0,950	158
4	974	β-Пинен	0,002	0,070	149
5	980	1-Октен-3-ол	0,019	0,550	180
6	986	3-Октанон	0,002	0,050	146
7	988	β-Мирцен	0,007	0,200	208
8	997	3-Октанол	0,002	0,050	101
9	1015	α-Терпинен	0,025	0,730	275
10	1023	пара-Цимен	0,045	1,300	122
11	1029	β-Фелландрен	0,017	0,480	88
12	1036	(Z)-β-Оцимен	0,020	0,570	154
13	1046	(E)-β-Оцимен	0,008	0,240	146
14	1057	γ-Терпинен	0,100	2,890	253
15	1070	(E)-Линалоол оксид (фураноид)	0,002	0,070	178
16	1084	α-Терпинолен	0,014	0,400	240
17	1099	β-Линалоол	0,024	0,700	132
18	1123	(Z)-пара-Мент-2-ен-1-ол	0,015	0,420	193
19	1140	(E)-пара-Мент-2-ен-1-ол	0,002	0,040	257
20	1144	β-Терpineол	0,010	0,290	219
21	1169	Борнеол	0,001	0,020	147
22	1179	Терпинен-4-ол	0,570	16,430	180
23	1188	пара-Цимен-8-ол	0,003	0,080	106
24	1194	α-Терpineол	0,061	1,750	120
25	1209	(E)-Пиперитол	0,010	0,290	189
26	1239	Тимол, метиловый эфир	0,005	0,140	260
27	1244	Карвакрол, метиловый эфир	0,001	0,020	111
28	1283	Борнил ацетат	0,000	0,010	131
29	1287	Дигидроедулан	0,006	0,180	66
30	1293	Тимол	0,017	0,500	162
31	1301	Карвакрол	0,003	0,070	134
32	1330	пара-Мента-1,4-диен-7-ол	0,001	0,040	122
33	1375	α-Копаен	0,007	0,200	138
34	1383	β-Бурбонен	0,043	1,230	154
35	1389	β-Элемен	0,010	0,290	65
36	1422	β-Кариофиллен	0,432	12,450	74
37	1430	β-Копаен	0,006	0,160	87
38	1433	(E)-α-Бергамотен	0,002	0,050	253
39	1439	Аромадендрен	0,001	0,010	68
40	1456	α-Гумулен	0,076	2,190	67
41	1461	Аллоаромадендрен	0,019	0,560	64
42	1483	Гермакрен D	0,336	9,680	98
43	1499	α-Мууролен	0,021	0,610	111
44	1505	(E,E)-α-Фарнезен	0,030	0,860	99
45	1508	β-Бисаболен	0,023	0,650	60
46	1514	γ-Кадинен	0,011	0,300	55
47	1520	δ-Кадинен	0,065	1,880	73
48	1538	α-Кадинен	0,003	0,100	68
49	1541	α-Калакорен	0,012	0,340	177
50	1554	Изокариофиллен эпоксид А	0,022	0,620	58
51	1581	Спатуленол	0,266	7,670	72
52	1586	Кариофиллен оксид	0,285	8,200	61
53	1596	Виридифлорол	0,014	0,400	60
54	1611	Гумулен 6,7-эпоксид	0,036	1,020	59
55	1617	Кубенол-1,10-ди-эпи	0,020	0,570	50
56	1629	Кубенол-1-эпи	0,004	0,130	48

Окончание таблицы 2

I	2	3	4	5	6
57	1647	δ-Кадинол	0,075	2,170	62
58	1656	α-Кадинол	0,208	5,980	54
59	1692	Кадина-3,10(15)-диен-5-он	0,018	0,530	68
60	1842	Гексагидрофарнезил ацетон	0,014	0,410	66
		Идентифицированные соединения	3,1	88,9	
		Неидентифицированные соединения	0,4	11,1	
		Сумма	3,5	100,0	

По данным наших исследований основными соединениями ЭМ душицы обыкновенной, произрастающей в Московской области, являются 12 соединений: терпинен-4-ол (16,4%), β-кариофиллен (12,4%), гермакрен D (9,7%), кариофиллен оксид (8,2%), спатуленол (7,7%), α-кадинол (6,0%), γ-терпинен (2,9%), α-кадинол (2,8%), α-гумулен (2,2%), δ-кадинен (1,9%) и α-терpineол (1,7%). На их долю приходится 71,9% общего содержания соединений ЭМ. Относительное содержание всех идентифицированных и не идентифицированных соединений ЭМ составляет соответственно 88,9 и 11,1% (табл. 2).

Коэффициент вариации метаболитов (КВ) у генетически однородных растений, растущих в контролируемых условиях, обычно не превышает 40% [14]. У растений в открытом грунте КВ метаболитов может достигать 60–80%, что обусловлено локальными различиями факторов среды, а также пластичностью метаболизма. В нашем эксперименте мы использовали растения душицы обыкновенной, которые росли в открытом грунте при близких экологических условиях, но отличались генетически. По этой причине КВ соединений ЭМ варьировал от 48 до 275% (табл. 2).

С целью изучения различий исследуемых образцов по составу и содержанию ЭМ использовали многомерный анализ. На первом этапе данные по содержанию всех 120 соединений ЭМ у 14 образцов душицы обыкновенной анализировали методом главной компоненты (МГК). Этот метод является стандартным методом многомерной статистики и используется в метаболомике для общей и предварительной характеристики классификации образцов. Установлено, что образцы хорошо разделяются на две группы (рис. 2). Образцы 1-й группы характеризуются высоким общим содержанием ЭМ (3,8–8,8 мг/г), а образцы 2-й группы – низким содержанием ЭМ (1,0–2,7 мг/г). Однако известно, что результаты МГК при исследовании биологических объектов сильно зависят от влияния многих внешних факторов, не связанных с исследуемой проблемой (биологическая изменчивость образцов, изменение факторов среды, смещение нуля при работе хроматографической системы и др.) [14, 15]. Все это значительно усложняет интерпретацию полученных данных по классификации исследуемых образцов.

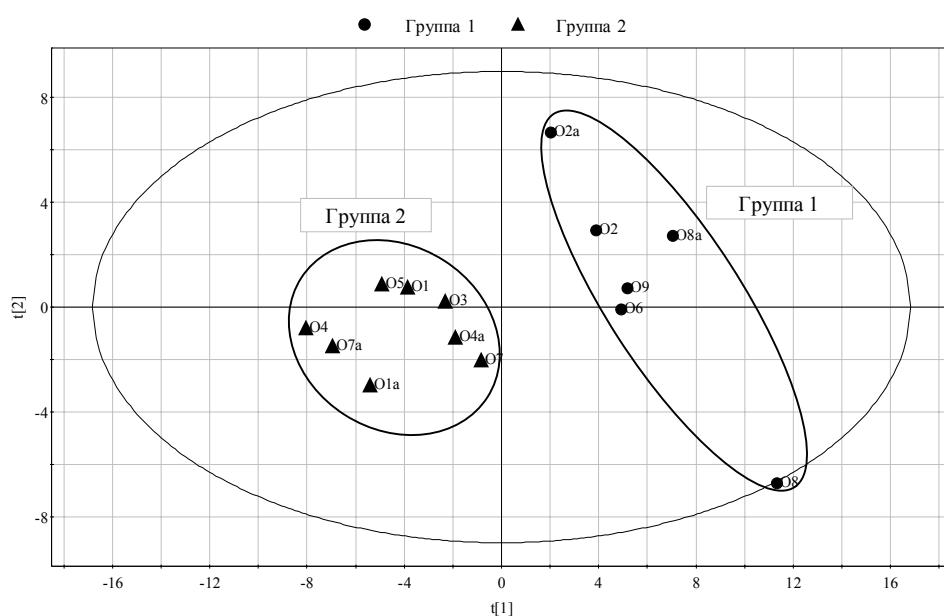


Рис. 2. Разделение образцов эфирного масла душицы обыкновенной на две группы методом главной компоненты

В связи с этим на следующем этапе многомерного анализа использовали метод OPLS (orthogonal partial least-squares to latent structures), который отделяет существующие групповые различия в составе и содержании соединений ЭМ от различий между образцами внутри этих групп и ориентирует анализ на изучение влияния фактора, являющегося основным предметом исследования [15]. В нашем случае это различие двух групп образцов душицы обыкновенной, обнаруженных методом МГК, по составу и содержанию соединений ЭМ. В результате применения OPLS метода было установлено, что различие двух групп статистически значимо ($F = 19,3; p = 4,7 \cdot 10^{-4}$).

Стратегия определения соединений-маркеров, которые обусловливают биохимические различия двух групп образцов душицы обыкновенной, включала два этапа. На первом этапе для визуализации результатов OPLS модели использовали S-график (рис. 3), где каждое соединение располагается на графике в соответствии со значением его ковариации, которая характеризует интенсивность вклада соединения в различие двух групп образцов (ось X), и корреляции, которая характеризует достоверность вклада соединения в различие двух групп образцов (ось Y). Соединения с наиболее высокими значениями обоих параметров являются потенциальными соединениями-маркерами, которые определяют различия между группами [15].

На следующем этапе для каждого метаболита рассчитывали значение VIP параметра (variable importance in the projection) OPLS модели, который также характеризует вклад метаболита в классификацию двух групп образцов [15]. Общепринятым считается, что соединения со значением VIP более 1,0 вносят статистически значимый вклад в дискриминацию исследуемых групп образцов [15].

В результате анализа параметров OPLS модели образцов душицы обыкновенной из 120 соединений ЭМ были выбраны 33 соединения-маркера, которые характеризуются высокими значениями корреляции (более 0,7), ковариации (более 0,09) и VIP (более 1,1) (табл. 3). В образцах 1-й группы суммарное относительное содержание соединений-маркеров достигает 69,9%, тогда как в образцах 2-й группы – только 22,8%. Общее содержание соединений-маркеров в образцах группы № 1 было в 8,5 раза выше, чем в образцах группы № 2 (табл. 3). Различие в сумме всех 120 соединений ЭМ выражено всего в 2,8 раза.

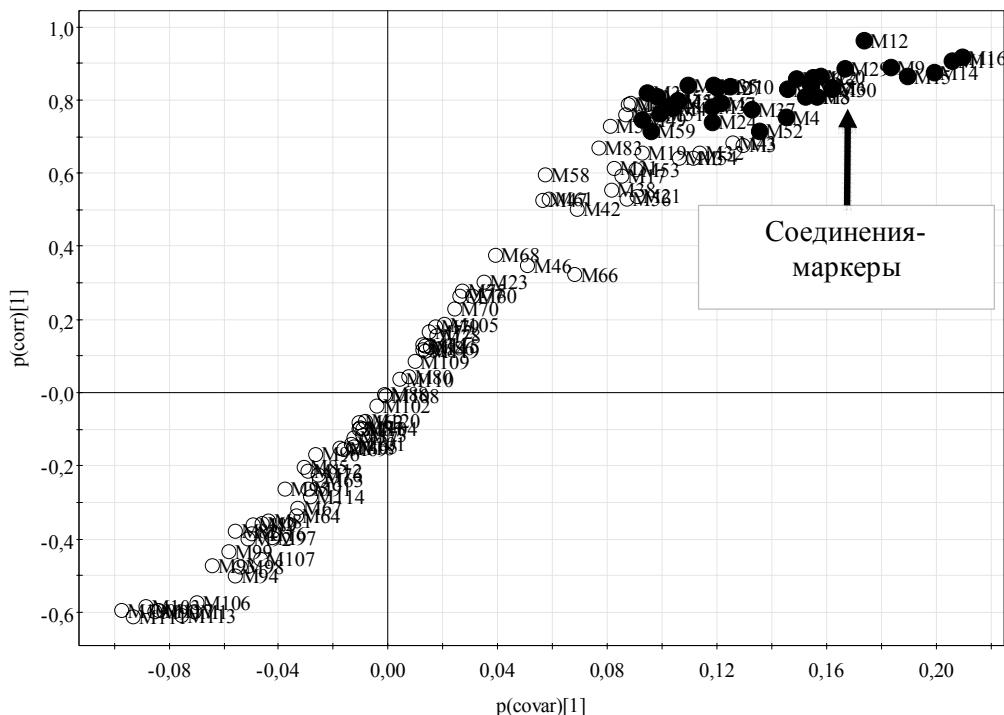


Рис. 3. S-график OPLS модели для выбора соединений-маркеров, которые определяют различие двух групп образцов эфирного масла душицы обыкновенной.

Оси графика: p(corr)[1] – корреляция; p(covar)[1] – ковариация

Таблица 3. Содержание соединений-маркеров ЭМ в образцах двух групп душицы обыкновенной, а также разница в их содержании в образцах 1-й и 2-й групп

Название соединения	Среднее содержание, мг/г		Разница в содержании, раз (Г1/Г2)
	Группа 1	Группа 2	
<i>Монотерпены</i>			
α-Туйен	0,0021	0,0005	4,2
α-Пинен	0,0046	0,0005	8,6
Сабинен	0,0727	0,0033	22,0
β-Пинен	0,0053	0,0002	23,1
β-Мирцен	0,0159	0,0002	84,1
α-Терпинен	0,0592	0,0001	711,2
пара-Цимен	0,1020	0,0024	42,0
(Z)-β-Оцимен	0,0453	0,0006	71,3
(E)-β-Оцимен	0,0188	0,0003	54,8
γ-Терпинен	0,2335	0,0004	606,6
α-Терпинолен	0,0317	0,0006	56,5
Сумма	0,5913	0,0092	64,2
<i>Оксигенированные монотерпены</i>			
1-Октен-3-ол	0,0400	0,0033	12,0
3-Октанон	0,0035	0,0006	6,1
3-Октанол	0,0033	0,0004	7,6
(Z)-пара-Мент-2-ен-1-ол	0,0334	0,0007	49,6
β-Терpineол	0,0231	0,0005	42,3
Борнеол	0,0013	0,0001	14,4
Терпинен-4-ол	1,2783	0,0394	32,5
пара-Цимен-8-ол	0,0052	0,0008	6,2
α-Терpineол	0,1204	0,0162	7,4
(Z)-Пиперитол	0,0233	0,0004	53,3
Дигидроедулан	0,0105	0,0030	3,4
p-Мента-1,4-диен-7-ол	0,0028	0,0003	10,1
Сумма	1,5451	0,0659	23,5
<i>Сесквитерпены</i>			
β-Элемен	0,0162	0,0054	3,0
β-Кариофиллен	0,7554	0,1902	4,0
β-Копаен	0,0099	0,0023	4,4
α-Кариофиллен	0,1249	0,0393	3,2
Гермакрен D	0,6493	0,1011	6,4
α-Мууролен	0,0396	0,0071	5,5
δ-Кадинен	0,1102	0,0313	3,5
Сумма	1,7056	0,3768	4,5
<i>Фенолы</i>			
Тимол, метиловый эфир	0,0109	0,0002	65,6
Тимол	0,0365	0,0030	12,0
Карвакрол	0,0051	0,0006	9,3
Сумма	0,0525	0,0038	14,0
Общее содержание соединений-маркеров	3,8944	0,4556	8,5
Общее содержание всех 120 соединений	5,5681	1,9938	2,8
Относительное содержание соединений-маркеров, %	69,94	22,85	

Интересно, что из 12 основных соединений ЭМ душицы обыкновенной (табл. 2), только восемь соединений входили в состав соединений-маркеров, определяющих различие двух групп растений. Содержание остальных четырех соединений было высоким, но приблизительно одинаковым в образцах обеих групп: спатуленол – 0,27 и 0,26; кариофиллен оксид – 0,20 и 0,34; δ-кадинол – 0,08 и 0,07; α-кадинол – 0,11 и 0,19 мг/г. Об этом свидетельствует и низкий коэффициент вариации этих соединений ЭМ в образцах душицы обыкновенной (табл. 2). Оценка химической структуры соединений-маркеров свидетельствует о том, что среди них в количественном отношении преобладают сесквитерпены и оксигенированные монотерпены (табл. 2).

Сравнение морфологических признаков двух групп растений душицы обыкновенной показало отсутствие какой-либо связи между окраской цветков и содержанием ЭМ. Однако установлено, что все компактные, низкорослые формы душицы обыкновенной входят в группу 1, которая характеризуется более высоким содержанием ЭМ.

Заключение

В результате изучения общего содержания ЭМ, а также состава и содержания индивидуальных соединений ЭМ у различных сортов и клонов душицы обыкновенной, произрастающей в Московской области, обнаружены два хемотипа растений: с высоким и низким содержанием ЭМ. Идентифицированы индивидуальные соединения-маркеры ЭМ, которые в основном определяют эти хемотипические различия. Показано существование положительной связи между высоким содержанием ЭМ и компактной, низкорослой формой растений душицы обыкновенной.

Список литературы

1. Manohar V., Ingram C., Gray J., Talpur N.A., Echard B.W., Bagchi D., Preuss H.G. Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans* // Molecular and Cellular Biochemistry. 2001. Vol. 228. N1–2. Pp. 111–117.
2. Özkan A., Erdoğan A. A comparative evaluation of antioxidant and anticancer activity of essential oil from *Origanum onites* (*Lamiaceae*) and its two major phenolic components // Turk. J. Biol. 2011. Vol. 35. N6. Pp. 735–742.
3. Доста Н.И., Ниткин Д.М., Вощула В.И., Лелюк В.Ю., Гапоненко А.Д. Современные возможности использования «Уролесана» в лечении урологической патологии // Рецепт. 2011. Т. 80. №6. С. 151–158.
4. Sezik E., Tumen G., Kirimer N., Ozek T., Baser K.H.C. Essential oil composition of four *Origanum vulgare* subspecies of Anatolian origin // J. Essent. Oil Res. 1993. Vol. 5. Pp. 425–431.
5. Skoula M., Gotsiou P., Naxakis G., Johnson C. B. A chemosystematic investigation on the mono- and sesquiterpenoids in the genus *Origanum* (*Labiatae*) // Phytochemistry. 1999. Vol. 52. N4. Pp. 649–657.
6. Falco E., Mancini E., Roscigno G., Mignola E., Taglialatela-Scafati O., Senatore F. Chemical composition and biological activity of essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* L. under different growth conditions // Molecules. 2013. Vol. 18. N12. Pp. 14948–14960.
7. Kula J., Majda T., Stoyanova A., Georgiev E. Chemical composition of *Origanum vulgare* L. essential oil from Bulgaria // J. Essent. Oil Bearing Plants. 2007. Vol. 10. N3. Pp. 215–220.
8. Мирович В.М., Коненкина Т.А., Федосеева Г.М., Головных Н.Н. Исследование качественного состава эфирного масла душицы обыкновенной, произрастающей в Восточной Сибири // Химия растительного сырья. 2008. №2. С. 61–64.
9. Мяделец М.А., Васильева О.Ю., Домрачев Д.В. Исследование химического состава эфирных масел *Origanum vulgare* L. с различной окраской цветков // Химия растительного сырья. 2013. №1. С. 129–136.
10. Хазиева Ф.М., Коротких И.Н., Осипов В.И. Селекция лекарственных растений с применением метаболомного анализа // Материалы международной научно-практической конференции «Пути повышения конкурентоспособности отечественных сортов, семян, посадочного материала и технологий в условиях мирового рынка», Ялта, 2015. №55. С. 267–272.
11. Schauer N., Steinhauser D., Strelkov S. et al. GC-MS libraries for the rapid identification of metabolites in complex biological samples // FEBS Letters. 2005. Vol. 579. N6. Pp. 1332–1337.
12. Ткачев А.В. Исследование летучих веществ растений. Новосибирск, 2008. 969 с.
13. Aligiannis N., Kalpoutzakis E., Mitaku S., Chinou I. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species // J. Agric. Food Chem. 2001. Vol. 49. N9. Pp. 4168–4170.
14. Ossipov V., Ossipova S., Bykov V., Oksanen E., Koricheva J., Haukioja E. Application of metabolomics to genotype and phenotype discrimination of birch trees grown in a long-term open-field experiment // Metabolomics. 2008. Vol. 4. N1. Pp. 39–51.
15. Ossipov V., Klemola T., Ruohomäki K., Salminen J.-P. Effects of three years' increase in density of the geometrid *Epirrita autumnata* on the change in metabolome of mountain birch trees (*Betula pubescens* ssp. *czerepanovii*) // Chemoecology. 2014. Vol. 24. N5. Pp. 201–214.

Поступило в редакцию 18 февраля 2016 г.

После переработки 3 сентября 2016 г.

Hazieva F.M.^{1,*}, Ossipov V.I.^{1,2}, Korotkikh I.N.¹ THE STUDY OF INTRASPECIFIC VARIATION OF OREGANO (*ORIGANUM VULGARE L.*) ESSENTIAL OIL

¹ All-Russian Institute of Medicinal and Aromatic Plants, ul. Grina, 7, Moscow, 117216 (Russia),

e-mail: vilar.6@yandex.ru

² Peoples' Friendship University of Russia, ul. Mikluho-Maklaya, 8/2, Moscow, 117198 (Russia)

The intraspecies variability of essential oil (EO) compounds in the Oregano plants (*Origanum vulgare L.*) was studied. To this end, total content of EO, as well as the composition and content of EO compounds were analyzed in the samples of three varieties and six clones of Oregano plants obtained in the course of breeding, and which were distinguished by some morphological characteristics (height and form of plant, flowers coloring). Application of gas-liquid chromatography with mass spectrometric detector (GC-MS) allowed determining in the samples of Oregano EO 120 individual compounds, 60 of which were identified. The major compounds were terpinene-4-ol (16,4%), β -caryophyllene (12,4%), germacrene-D (9,7%), caryophyllene oxide (8,2%), spathulenol (7,7%), α -cadinol (6,0%), γ -terpinen (2,9%), α -cadinol (2,8%), α -humulene (2,2%), δ -cadinene (1,9%) и α -terpineol (1,7%). They account for 71,9 % of total content of EO. Analysis of GC-MS data by the methods of multivariate statistics show that the studied clones (varieties) of Oregano plants are divided on the two groups with high and low EO content. Compounds that were mainly responsible for the differences of these two groups in the EO content were determined. It is assumed the existence of a positive relationship between high EO content and compact, dwarf form of Oregano plants.

Keywords: *Origanum vulgare*, essential oil, chemotypes, gas-liquid chromatography, mass-spectrometry.

References

1. Manohar V., Ingram C., Gray J., Talpur N.A., Echard B.W., Bagchi D., Preuss H.G. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2001, vol. 228, no. 1-2, pp. 111–117.
2. Özkan A., Erdoğan A. *Turk. J. Biol.*, 2011, vol. 35, no. 6, pp. 735–742.
3. Dosta N.I., Nitkin D.M., Voshchula V.I., Leliuk V.Iu., Gaponenko A.D. *Retsept*, 2011, vol. 80, no. 6, pp. 151–158. (in Russ.).
4. Sezik E., Tumen G., Kirimer N., Ozek T., Baser K.H.C. *J. Essent. Oil Res.*, 1993, vol. 5, pp. 425–431.
5. Skoula M., Gotsiou P., Naxakis G., Johnson C.B. *Phytochemistry*, 1999, vol. 52, no. 4, pp. 649–657.
6. Falco E., Mancini E., Roscigno G., Mignola E., Taglialatela-Scafati O., Senatore F. *Molecules*, 2013, vol. 18, no. 12, pp. 14948–14960.
7. Kula J., Majda T., Stoyanova A., Georgiev E. *J. Essent. Oil Bearing Plants*, 2007, vol. 10, no. 3, pp. 215–220.
8. Mirovich V.M., Konenkina T.A., Fedoseeva G.M., Golovnykh N.N. *Khimiia rastitel'nogo syr'ya*, 2008, no. 2, pp. 61–64. (in Russ.).
9. Miadelets M.A., Vasil'eva O.Iu., Domrachev D.V. *Khimiia rastitel'nogo syr'ya*, 2013, no. 1, pp. 129–136. (in Russ.).
10. Khazieva F.M., Korotkikh I.N., Osipov V.I. *Materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Puti povysheniia konkurentospo-sobnosti otechestvennykh sortov, semian, posadochnogo materiala i tekhnologii v usloviakh mirovogo rynka»*. [Proceedings of the international scientific-practical conference "Ways of increasing the competitiveness of domestic varieties of seeds, planting materials and technologies in the global market conditions"]. Ialta, 2015, no. 55, pp. 267–272. (in Russ.).
11. Schauer N., Steinhauser D., Strelkov S. et al. *FEBS Letters*, 2005, vol. 579, no. 6, pp. 1332–1337.
12. Tkachev A.V. *Issledovanie letuchikh veshchestv rastenii*. [Study of volatile plant materials]. Novosibirsk, 2008. 969 p. (in Russ.).
13. Aligannis N., Kalpoutzakis E., Mitaku S., Chinou I. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, vol. 49, no. 9, pp. 4168–4170.
14. Ossipov V., Ossipova S., Bykov V., Oksanen E., Koricheva J., Haukioja E. *Metabolomics*, 2008, vol. 4, no. 1, pp. 39–51.
15. Ossipov V., Klemola T., Ruohomäki K., Salminen J.-P. *Chemoecology*, 2014, vol. 24, no. 5, pp. 201–214.

Received February 18, 2016

Revised September 3, 2016

* Corresponding author.

