УДК 582.972.3: 581.145.1: 599.4.6

Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, О. В. Горяча

Національний фармацевтичний університет

КОМПОНЕНТНИЙ СКЛАД ПЕТРОЛЕЙНОЇ, ХЛОРОФОРМНОЇ ТА ЕТИЛАЦЕТАТНОЇ ФРАКЦІЙ ТРАВИ *GALIUM VERUM L.*

Методом хромато-мас-спектрометрії проведено порівняльне вивчення петролейної, хлороформної та етилацетатної фракції з трави підмаренника справжнього. У трьох витягах ідентифіковано 49 сполук, серед яких терпеноїди, ароматичні сполуки, спирти, альдегіди, кетони, жирні олії і їх складні ефіри. Вперше в траві підмаренника справжнього виявлено сполуки з протипухлинною активністю: терпенові лактони лоліолід та дигідроактинідіолід; тритерпеноїд сквален, який у трьох фракціях складає 6,375 %.

Ключові слова: підмаренник справжній; хромато-мас-спектрометрія; вуглеводні; терпеноїди; ароматичні сполуки; жирні кислоти

ВСТУП

Види роду Підмаренник родини Маренові привертають до себе увагу фітохіміків багатьох країн. У підмаренниках знайдені різні групи біологічно активних речовин (БАР). У підземних органах і траві підмаренника справжнього (*Galium verum* L.) вивчались фенолкарбонові кислоти та їх похідні, кумарини, флавоноїди, антраценпохідні, дубильні речовини, іридоїди [6,9,10].

Раніше нами було вивчено елементний, амінокислотний і жирнокислотний склад трави і підземних органів підмаренника справжнього, розпочато дослідження терпеноїдів та сполук ліпофільних фракцій [1–5, 7].

Метою нашої роботи стало проведення порівняльного аналізу компонентного складу ліпофільних фракцій трави підмаренника справжнього, які були отримані рідинно-рідинним фракціонуванням.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Сировину заготовлено у фазі цвітіння в Харківській області влітку 2009 р. Фракції отримували шляхом послідовного вичерпного екстрагування повітряно-сухої трави підмаренника справжнього петролейним ефіром, хлороформом та етилацетатом.

Вивчення компонентного складу зразків проводили хромато-мас-спектрометричним методом [8] на спектрографі фірми «Хьюлет-Паккард» (HP), США, що складається з хроматографа марки HP6890 GC та мас-селективного детектора 5973N за методикою, описаною раніше [3].

© *Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, О. В. Горяча, 2009*

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Одержані спектри розглядали як на основі загальних закономірностей фрагментації молекул органічних сполук під дією електронного удару, так і порівнянням результатів з даними мас-спектральної бібліотеки «Flavor2. L.» та «NIST98L»: для кожного хроматографічного піку розраховували усереднений мас-спектр, від якого віднімали спектр фону. Ідентифікацію сполук проводили шляхом порівняння одержаних мас-спектрів хроматографічного піку з мас-спектрами еталонних сполук з найбільшою вірогідністю ідентифікованих сполук програмою розпізнавання на масиві спектрів бази даних. Кількісний вміст розраховували за відношенням площі піків компонентів до суми площ усіх піків на хроматограмі (метод нормалізації).

У результаті було ідентифіковано в петролейному витягу 8 сполук, в етилацетатному — 27, в хлороформному — 38. Їх якісний склад і кількісний вміст у досліджуваних зразках відображено на рис. 1–3 і наведено в таблиці.

Як видно з таблиці, до складу петролейної витяжки трави підмаренника справжнього входять переважно вуглеводні: хенейкозан (1,448 %), докозан (2,150 %), 9-трикозен (1,516 %), трикозан (4,462 %), тетракозан (5,550 %), гептакозан (5,432 %), нортритерпен (36,602 %) та тритерпен сквален (4,567 %). Вміст ідентифікованих сполук у петролейній фракції складає 61,727 %.

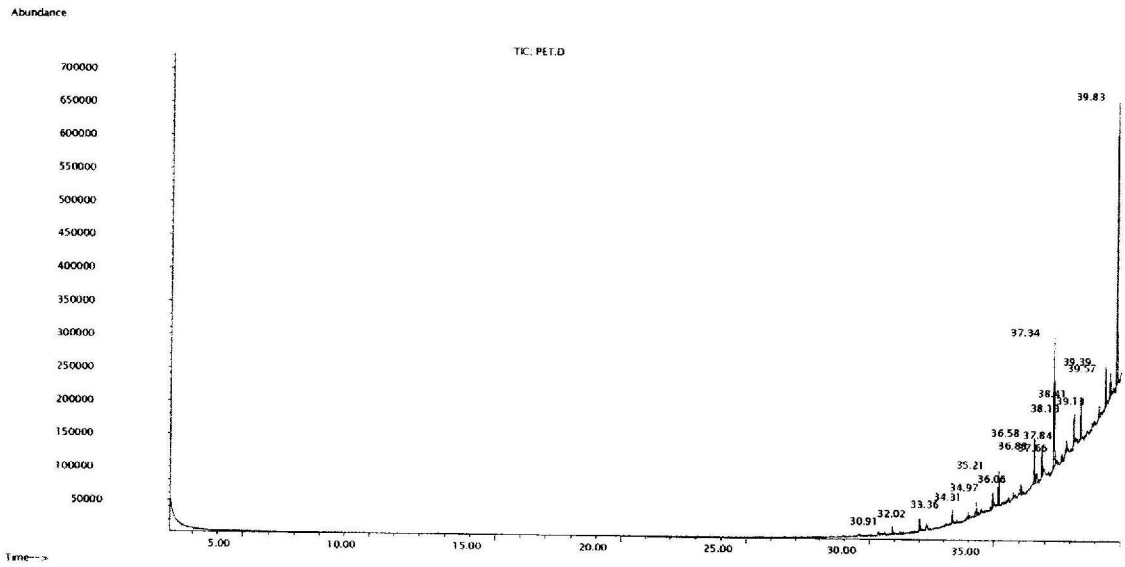

Рис.1. *Хроматограма петролейної фракції.*

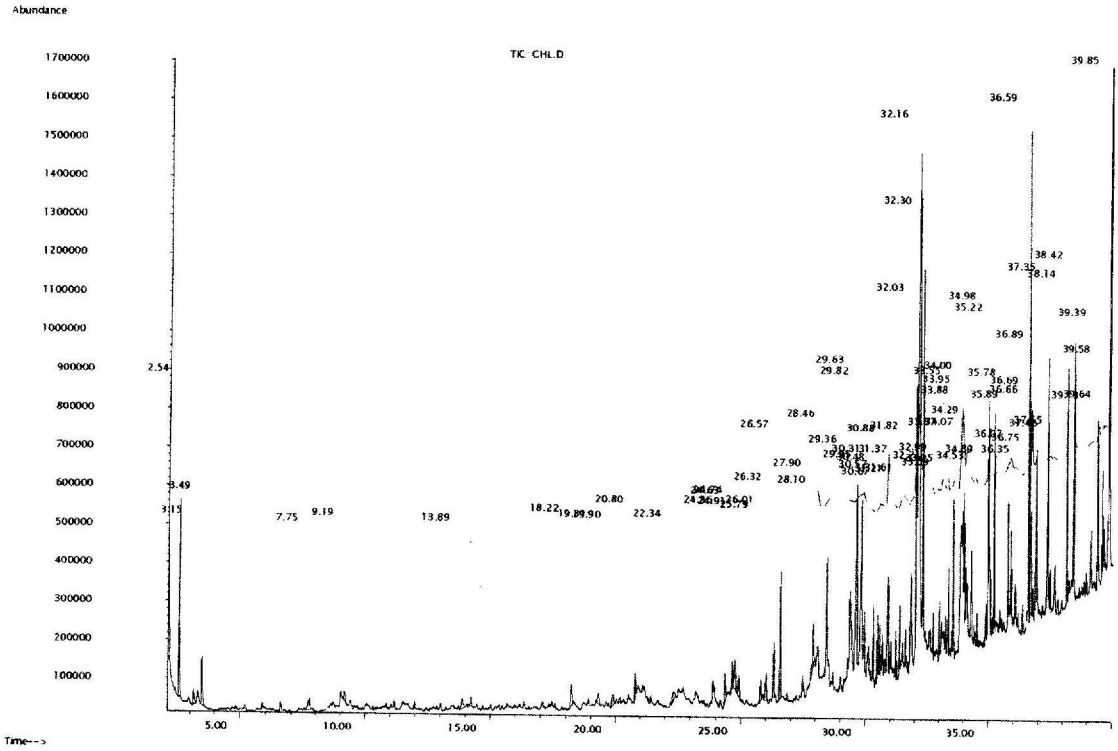

Рис. 2. *Хроматограма хлороформної фракції.*

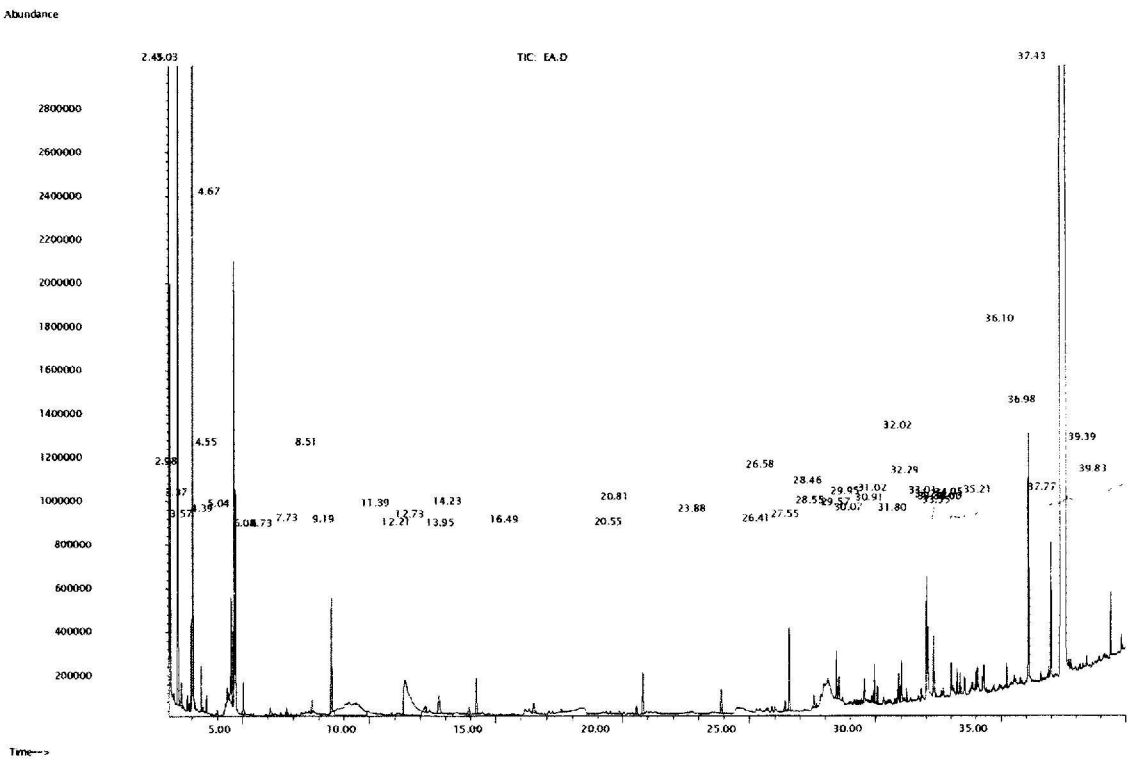

Рис. 3. *Хроматограма етилацетатної фракції.*

Таблиця

КОМПОНЕНТНИЙ СКЛАД ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ ТРАВИ ПІДМАРЕННИКА СПРАВЖНЬОГО

Сполука	Час утримування (хв)	Вміст сполук (%)		
		фракції		
		петролейна	хлороформна	етилацетатна
1	2	3	4	5
Бензальдегід	6.73			0,085
Декан	7.73			0,115
Капронова кислота	7.75		0,380	
п-Цимен	8.51			0,956
Фенілацетальдегід	9.18		0,264	2,312
Гліцерину діацетат	11.39			2,490
2-Етилгексанова кислота	12.21			0,112
Додекан	14.23		0,302	0,339
2-Метокси-4-вінілфенол	18.22		0,506	
8-Гідроксиліналоол	19.90		0,355	
Тетрадецен-1	20.55			0,089
Тетрадекан	20.81		0,377	0,421
Пентадекан	23.88			0,250
α-Аморфен	24.35		0,462	
Дигідроактинідіолід	24.91		0,459	
Неролідол	25.78		0,376	
Додеканова кислота	26.01		0,600	
Гексадецен-1	26.41			0,096
Гексадекан	26.57		1,877	0,672
Гептадекан	28.45		1,625	0,305

1	2	3	4	5
2,6,10,14-Тетраметилпентадекан (пристан)	28.54			0,203
4-((1E)-3-Гідрокси-1-пропеніл)-2-метоксифенол	29.36		2,514	
Тетрадеканова кислота	29.56		4,011	0,218
Лоліолід	29.81		3,615	
Октадекан	29.94		0,626	0,217
2,6,10,14-Тетраметилгексадекан (фітан)	30.06			0,155
Гексагідрофарнезилацетон	30.57		0,495	
Етил-п-гідроксициннамат	30.67		0,757	
Пентадеканова кислота	30.88		0,426	
Нонадекан	31.21		0,447	
Фарнезол	31.37		0,670	
Етил (2E)-3-(4-гідрокси-3-метоксифеніл)-2-пропеноат	31.61		0,403	
Пальмітоолеїнова кислота	31.81		2,221	0,084
Пальмітинова кислота	32.15		12,165	
Етилпальмітат	32.29		3,389	0,272
1,13-Тетрадекадієн	33.00		0,365	0,193
Хенейкозан	33.35	1,448	0,693	0,134
Фітол	33.54		1,472	0,101
Етиллінолеат	34.00		1,043	0,098
Етилстеарат	34.05		1,892	0,159
Докозан	34.31	2,150		
9-Трикозен	34.97	1,516	2,073	
Трикозан	35.21	4,462	2,042	0,137
5-Метил-5-(4,8,12-триметилтридецил) дигідро-2 (3H)-фуранон	35.77		1,072	
9-Октадеценамід	35.89		0,991	
Тетракозан	36.59	5,550	4,985	
Гептакозан	38.41	5,432	2,732	
Сквален	39.38	4,567	1,444	0,364
Нонакозан	39.83	36,602	11,670	0,096
Вміст ідентифікованих сполук (%)		61,727	71,796	10,673

Виявлено, що хлороформна фракція містить різні групи БАР. Терпеноїдний лактон лоліолід (3,615 %) та монотерпеноїдний лактон дигідроактинідіолід (0,459 %); монотерпеноїд 8-гідроксиліналоол (0,355 %); сесквітерпеноїди: α-аморфен (0.462 %), фарнезол (0.670 %), неролідол (0,376 %), гексагідрофарнезилацетон (0.495 %); дитерпеноїд фітол (1,472 %), ациклічний тритерпеноїд сквален (1,444 %). Вуглеводні: додекан (0,302 %), тетрадекан (0,377 %), гексадекан (1,877 %), гептадекан (1,625 %), октадекан (0,626 %), нонадекан (0,447 %), 1,13-тетрадекадієн (0,365 %), хенейкозан (0,693 %), 9-трикозен (2,073 %), трикозан (2,042 %), тетракозан (4,985 %), гептакозан (2,732 %), нонакозан (11,670 %). Жирні кислоти та їх ефіри: капронову (0,380 %), додеканову (0,600 %), тетрадеканову (4,011 %), пентадеканову (0,426 %), пальмітоолеїнову (2,221 %), пальмітинову (12,165 %), етилпальмітат (3,389 %), етиллінолеат (1,043 %), етилстеарат (1,892 %). Ароматичні сполуки: фенілацетальдегід (0,264 %), 2-метокси-4-вінілфенол (0,506 %), 4-((1E)-3-гідрокси-1-пропеніл)-2-метоксифенол (2,514 %), етил (2E)-3-(4-гідрокси-3-метоксифеніл)-2-пропеноат (0,403 %), етил-*п*-гідроксициннамат (0,757 %).

Вміст терпеноїдів у хлороформній фракції складає 9,348 %, вуглеводнів — 29,81 %, ароматичних сполук — 4,44 %, жирних кислот та їх складних ефірів — 25,07 %. Вміст ідентифікованих сполук у хлороформній фракції складає 71,796 %.

Етилацетатна фракція містить суму вуглеводнів: декан (0,115 %), додекан (0,339 %), тетрадецен-1 (0,089 %), тетрадекан (0,421 %), пентадекан (0,250 %), гексадецен-1 (0,096 %), гексадекан (0,672 %), гептадекан (0,305 %), октадекан (0,217 %), 1,13-тетрадекадієн (0,193 %), хенейкозан (0,134 %), трикозан (0,137 %), нонакозан (0,096 %); ароматичні сполуки —

п-цимен (0,956 %), фенілацетальдегід (2,312 %) та бензальдегід (0,085 %); жирні кислоти та їх складні ефіри: тетрадеканова кислота (0,218 %), етилпальмітат (0,272 %), етиллінолеат (0,098 %), етилстеарат (0,159 %), пальмітолеїнова кислота (0,084 %); терпеноїди: дитерпеноїди: фітол (0,101 %), фітан (0,155 %), нордитерпен пристан (0,203 %), тритерпен сквален (0,364 %).

Вміст терпеноїдів в етилацетатній фракції складає 0,823 %, вуглеводнів — 3,064 %, ароматичних сполук — 3,353 %, жирних кислот та їх складних ефірів — 0,831 %. Вміст ідентифікованих сполук у хлороформній фракції складає 71,796 %.

Результати порівняльного аналізу ліпофільних фракцій трави підмаренника справжнього свідчать про те, що у всіх трьох фракціях міститься хенейкозан, трикозан, нонакозан, сквален. Концентрація сполук при цьому зменшується відповідно із зростанням полярності розчинника.

Спільними для петролейної та хлороформної фракцій є: 9-трикозен — 1,516 % у петролейному та 0,417 % у хлороформному; тетракозан — 5,550 % у петролейному та 1,003 % у хлороформному; стероїдна сполука — 5,432 % у петролейному та 0,549 % у хлороформному.

Спільними для хлороформної та етилацетатної фракцій є: фенілацетальдегід, додекан, тетрадекан, гексадекан, гептадекан, тетрадеканова кислота, октадекан, пальмітоолеїнова кислота, етилпальмітат, 1,13-тетрадекадієн, фітол, етилстеарат, етиллінолеат. При цьому концентрація фенілацетальдегіду, додекану, тетрадекану в етилацетатній фракції значно вища, ніж у хлороформній. Концентрація решти сполук навпаки — значно зменшується.

ВИСНОВКИ

1. Методом хромато-мас-спектрометрії проведено порівняльне вивчення петролейної, хлороформної та етилацетатної фракцій, отриманих з трави підмаренника справжнього.
2. До складу петролейної витягжки трави підмаренника справжнього входять переважно вуглеводні. У хлороформній фракції вміст терпеноїдів складає 9,348 %, вуглеводнів — 29,81 %, ароматичних сполук — 4,44 %, жирних кислот та їх складних ефірів — 25,07 %. Вміст терпеноїдів в етилацетатній фракції складає 0,823 %, вуглеводнів — 3,064 %, ароматичних сполук — 3,353 %, жирних кислот та їх складних ефірів — 0,831 %.
3. У кількісному відношенні домінуючим компонентом петролейної фракції є нонакозан, хлороформної — пальмітинова кислота та нортритерпен, етилацетатної — фенілацетальдегід.
4. Вперше для підмаренника справжнього виявлені речовини терпеноїдної природи, серед яких сполуки з протипухлинною активністю: лактони лоліолід, дигідроактинідіолід та значний вміст тритерпеноїду сквалену, який у сумі трьох фракцій складає 6,375 %.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Амінокислотний склад кореневищ із коренями та трави Galium verum L. /[Т. В. Ільїна, О. В. Горяча, А. М. Ковальова, О. В. Андрусенко та ін.] // Фармаком. — 2009. — №1. — С.41–44.
2. Ільїна Т. В., Ковальова А. М., Горяча О. В. Дослідження елементного складу підмаренників // Запорожский мед. журн. — 2008. — Т. 1. №2 (47), — С. 142–146.
3. Ільїна Т. В., Горяча О. В., Ковальова А. М., Комісаренко А. М. Терпеноїди квіток Galium verum L. // Вісник фармації. — 2008. — №4. — С.25–28.
4. Ільїна Т. В., Гриценко О. М., Горяча О. В., Ковальова А. М. Хімічне дослідження ліпофільної фракції трави підмаренника справжнього // Зб. наукових праць співробітників КМАПО ім. Шупика. — Вип. 17, кн.1. — К., 2008. — С. 748–752.
5. Ильина Т. В., Ковалева А. М., Горячая О. В. Изучение петролейной фракции из травы подмаренника настоящего // Матер. междунар. научно-практ. конф. [«Фармация Казахстана: интеграция науки, образования и производства»]. — 2009. — Т. 1. — С. 228–231.
6. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Caprifoliaceae — Plantaginaceae. — Л., 1990. — 326 с.
7. Хромато-мас-спектрометричне дослідження ефірної олії квіток підмаренника справжнього/Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, О. І. Болдирєва, О. В. Горяча // Фармакогнозія XXI століття. Досягнення та перспективи: Тези доп. ювілейної наук.-практ. конф. за міжнар. участю (26 березня 2009 р.). — Х.: Вид-во НФаУ, 2009. — 305 с.
8. Bicchi C., Brunelli C., Cordero C. et al. // J. Chromatogr. A. — 2004. — Vol. 1024, №1–2. — С.195–207.

9. L. Omur Demirezer, Filiz Gurbuz, Zuhal Guvenalp et al. Iridoids, Flavonoids and Monoterpene Glycosides from *Galium verum* subsp. *verum*. // Turk. J. Chem. — 2006. — Vol. 30. — P. 525–534.

10. Tămas M., Doina Stana., Simina Timis. Comparative phytochemical research of *Galium verum* L. and *G. mollugo* L. // Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj, XXXIV/2006. — 2006. — P. 18–20.

УДК 582.972.3: 581.145.1: 599.4.6

Т. В. Ильина, А. М. Ковалева, О. В. Горячая

КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ ПЕТРОЛЕЙНОЙ, ХЛОРОФОРМНОЙ И ЭТИЛАЦЕТАТНОЙ ФРАКЦИЙ ТРАВЫ *GALIUM VERUM L.*

Методом хромато-масс-спектрометрии проведено сравнительное изучение петролейной, хлороформной и этилацетатной фракций из травы подмаренника настоящего. В трёх извлечениях идентифицировано 49 соединений, среди которых терпеноиды, ароматические соединения, спирты, альдегиды, кетоны, жирные кислоты и их сложные эфиры. Впервые в траве подмаренника настоящего установлены соединения с противоопухолевой активностью: терпеновые лактоны лолиолид и дигидроактинидиолид; тритерпен сквален, который в трех фракциях составляет 6,375%.

Ключевые слова: подмаренник настоящий; хромато-масс-спектрометрия; углеводороды; терпеноиды; ароматические соединения; жирные кислоты

UDC 582.972.3:581.145.1:599.4.6

T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryachaya

COMPOSITION OF PETROLEUM, CHLOROFORMIC AND ETHYL ACETATE FRACTIONS OF LADY'S BEDSTRAW HERD

By means of chromate-mass-spectrometry a comparative research of petroleum, chloroformic and ethyl acetate fractions of Lady's Bedstraw herb was conducted. 49 compounds have been identified. They were terpenoids, aril compounds, alcohols, aldehydes, ketones, fatty acids and their esters. For the first time in Lady's Bedstraw herb antiblastomic compounds were found – terpenoids lactones loliolid and dihydroactinidiolid; triterpen squalene (6.375% in all fractions).

Key words: Lady's Bedstraw; chromate-mass-spectrometry; hydrocarbons; terpenoids; aril compounds; fatty acids

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.
Тел.: (0572) 679208

Надійшла до редакції:
27.11.2009