

УДК 543.51:582.972.3:577.115.3

Н.С. ЮРЧЕНКО, Т.В. ІЛЬІНА, А.М. КОВАЛЬОВА

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ ХЛОРОФОРМНОЇ ФРАКЦІЇ ТРАВИ МАРЕНКИ ЗАПАШНОЇ

*Методом хромато-мас-спектрометрії проведено вивчення компонентів ліпофільної фракції трави маренки запашної (*Asperula odorata* L.). В результаті дослідження виявлено і встановлено вміст 57 сполук, з яких 39 ідентифіковано. Жирно-кислотний склад представлено 16 насиченими і 4 ненасиченими жирними кислотами. Домінуючою є пальмітинова кислота..*

Ключові слова: маренка запашна, хлороформна фракція, терпеноїди, вуглеводні, жирні кислоти

ВСТУП

На території України зростає близько 40 видів роду Маренка – *Asperula* L. родини маренові *Rubiaceae* Juss., серед них близько третини – це ендеміки Карпат або Криму. Маренка запашна – *Asperula odorata* L. широко розповсюджена, використовується у народній медицині як сечогінний, потогінний, седативний і ранозагоювальний засіб [4].

Раніше проводились дослідження хімічного складу кореневищ з коренями і трави маренки запашної, в результаті яких було встановлено, що підземна частина містить антраценпохідні групи алізарину, трава – фенолкарбонові кислоти, кумарини, флавоноїди, дубильні речовини, іридоїди, стероїдні сапоніни. Було досліджено компонентний склад ефірної олії трави маренки запашної [1-3].

В даний час нами проводиться системне дослідження ліпофільних сполук.

Метою даної роботи стало встановлення компонентного складу хлороформної фракції трави *Asperula odorata*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом дослідження стала хлороформна фракція, яка отримана шляхом вичерпного екстрагування хлороформом в апараті Сокслета повітряно-сухої трави маренки запашної, заготовленої у фазу цвітіння влітку 2011 р. в Харківській області. Екстракт концентрували до сухого залишку, вихід якого склав 6,89 %.

Для відгонки летких сполук використовували віали «Agilent» на 22 мл (part number 5183-4536) з відкритими кришками і силіконовим

ущільнювачем. У віалу на 20 мл поміщали наважку хлороформного екстракту, додавали розчин тридекану (50 мкг на наважку) у гексані як внутрішній стандарт, заливали до половини об'єму віали, прикручували кришку з холодильником і поміщали на піщаний нагрівник з підігрівом. Ступінь нагрівання регулювали так, щоб пари киплячої води не виходили з холодильника, а лише піднімалися не вище 75 % його довжини. Після кипіння протягом 2 годин трубку з кришкою знімали і зворотній холодильник, на внутрішній поверхні якого адсорбувались леткі сполуки, промивали 3 мл особливо чистого пентану. Змив збирали в суху віалу на 10 мл з подальшим його концентруванням шляхом продування особливо чистим азотом (100 мл/хв) до об'єму 10 мкл, який повністю забирали хроматографічним шприцем. Подальше концентрування проби проводили у самому шприці до об'єму 2 мкл. Введення проби у хроматографічну колонку проводили в режимі splitless. Швидкість введення проби 1,2 мл/хв протягом 0,2 хв [5, 6].

Для повного аналізу жирних кислот проводили попередню підготовку зразку екстракту, яка полягає у метилуванні жирних кислот 14 % розчином BCl_3 у безводному метанолі з метою отримання летких похідних з низькою температурою кипіння. Суміш витримували у герметично закупореній віалі протягом 8 годин при 65 °С. Метиллові ефіри жирних кислот екстрагували хлористим метилом [7].

Склад хлороформної фракції досліджували на хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. Умови аналізу: хроматографічна колонка капілярна DB-5 (для визначення компонентів до метилування) та INNOWAX (для визначення

© Н.С. Юрченко, Т.В. Ільїна, А.М. Ковальова, 2012

компонентів після метилування) довжиною 30 м і внутрішнім діаметром 0,25 мм. Газ-носії – гелій. Температура термостату 50 °C з програмуванням 4 °/хв до 320 °C.

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 NIST05 та WILEY 2007 із загальною кількістю спектрів понад 470000 в поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST. Вміст сполук розраховували відносно внутрішнього стандарту.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В результаті дослідження виявлено і встановлено кількісний вміст 57 летких сполук, з яких ідентифіковано 39 (рис. 1 і табл. 1). Вміст летких компонентів у хлороформній фракції складає 3,5 %.

Серед них терпеноїди: лоліолід, стігмастерол; вищі вуглеводні: тетрадекан, 2,7,10-триметилдодекан, пентадекан, 3-метилпентадекан, гексадекан, гексадецен-1, гексадецен-7, гептадекан, октадекан, октадецен-1, октадецен-5, ейкозан, ейкозен-1, ейкозен-7, докозан, докозен-1, тетракозан, тетракозен-1, пентакозан, гексакозан, гексакозен-1, гептакозан, гептакозен-1, нонако-

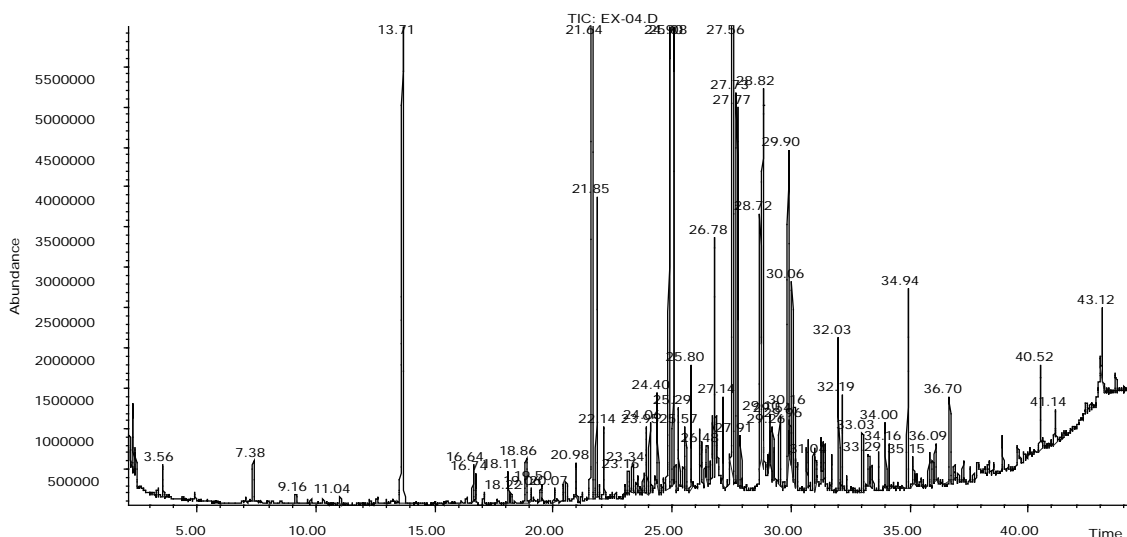


Рис. 1. Хроматограми летких сполук хлороформної фракції трави маренки запашної

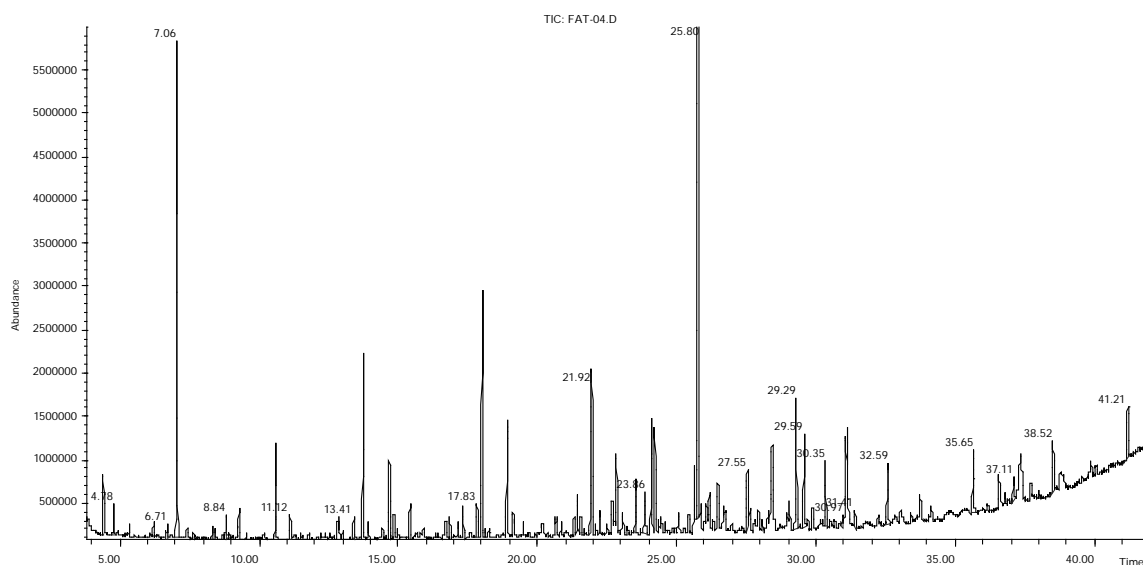


Рис. 2. Хроматограми метилових ефірів жирних кислот хлороформної фракції трави маренки запашної

Таблиця 1

ІДЕНТИФІКОВАНІ СПОЛУКИ ХЛОРОФОРМНОЇ ФРАКЦІЇ ТРАВИ МАРЕНКИ ЗАПАШНОЇ

№ з/п	Час утримування, хв	Сполука	Вміст, мг/1000г
1	3,56	Гексаналь	191,1
2	7,38	Транс-2-гептеналь	232,1
3	9,16	Транс-2,4-гептадієналь	53,0
4	11,03	Нонаналь	48,4
5	16,63	Транс-2-деценаль	200,6
6	16,74	Тетрадекан	174,5
7	18,11	2,7,10-Триметилдодекан	179,3
8	18,21	Цис-2,4-декадієналь	52,4
9	18,85	3-Етил-4-метил-1Н-пірол-2,5-діон	300,7
10	19,06	Транс-2,4-декадієналь	66,6
11	19,49	Пентадекан	108,1
12	20,06	3-Етеніл-4-метил-1Н-пірол-2,5-діон	94,9
13	20,98	3-Метилпентадекан	160,1
14	21,64	Гексадекан	3254,5
15	21,84	Гексадецен-1	1375,8
16	22,14	Гексадецен-7	336,3
17	23,16	Лауринова кислота	123,7
18	23,33	Гептадекан	99,4
19	24,90	Октадекан	4409,8
20	25,07	Октадецен-1	2178,3
21	25,29	Октадецен-5	312,9
22	27,55	Ейкозан	2495,2
23	27,73	Ейкозен-1	1432,2
24	27,77	Ейкозен-7	1483,3
25	28,71	Етилпальмітат	1050,8
26	28,82	Пальмітинова кислота	3215,6
27	29,89	Докозан	1178,5
28	29,96	Лоліолід	256,7
29	30,06	Докозен-1	666,8
30	31,03	Стеаринова кислота	271,5
31	32,02	Тетракозан	575,3
32	32,19	Тетракозен-1	331,6
33	33,02	Пентакозан	276,2
34	33,99	Гексакозан	269,9
35	34,15	Гексакозен-1	182,0
36	34,93	Гептакозан	853,8
37	35,15	Гептакозен-1	173,1
38	36,70	Нонакозан	307,6
39	40,52	Стігмастерол	497,3

зан; вищі жирні кислоти та їх ефіри: лауринова, пальмітинова, стеаринова, етилпальмітат; альдегіди: гексаналь, транс-2-гептеналь, транс-2,4-гептадієналь, нонаналь, транс-2-деценаль, цис-2,4-декадієналь, транс-2,4-декадієналь. Сумарний вміст вуглеводнів у суміші летких сполук складає 63,22 %, вищих жирних кислот та їх ефірів – 13,42 %, альдегідів – 2,28 %, терпеноїдів – 2,17 %.

При аналізі метилових ефірів жирних кислот (рис. 2, табл. 2) у досліджуваних зразках встановлено, що загальний вміст жирних кислот у хлороформній фракції складає 5,25 %.

Ідентифіковано 20 жирних кислот, з них 16 насичених і 4 ненасичених. Вміст насичених кислот складає 92,27 % від суми жирних кислот. Вміст ненасичених жирних кислот – 7,73 %. Домінуючим компонентом є пальмітинова кислота, вміст якої становить 63,72 % від суми жирних кислот.

ВИСНОВКИ

- Отримано ліпофільну фракцію трави маренки запашної методом вичерпної екстракції хлороформом в апараті Сокслета. Вихід становить 6,89 %.

Таблиця 2

ЖИРНІ КИСЛОТИ ХЛОРОФОРМНОЇ ФРАКЦІЇ ТРАВИ МАРЕНКИ ЗАПАШНОЇ

№ з/п	Час утримування, хв	Сполука	Загальна формула	Вміст у фракції, мг/кг	Вміст у сумі жирних кислот, %
1	4,77	Капронова	C _{6:0}	570	1,08
2	6,71	2-Гексенова	C _{6:1}	270	0,51
3	8,83	Каприлова	C _{8:0}	419	0,80
4	11,12	Нонанова	C _{9:0}	420	0,80
5	13,40	Капринова	C _{10:0}	463	0,88
6	17,83	Лауринова	C _{12:0}	648	1,23
7	21,92	Міристинова	C _{14:0}	1288	2,45
8	23,86	Пентадеканова	C _{15:0}	952	1,81
9	25,80	Пальмітинова	C _{16:0}	33471	63,72
10	27,54	Гептадеканова	C _{17:0}	1208	2,30
11	29,29	Стеаринова	C _{18:0}	2936	5,59
12	29,59	Олеїнова	C _{18:1n9}	2126	4,05
13	30,34	Лінолева	C _{18:2n9,12}	1290	2,46
14	30,96	10-Метилстеаринова (туберкулостеаринова)	C _{19:0}	238	0,45
15	31,40	Ліноленова	C _{18:3n9,12,15}	373	0,71
16	32,58	Арахінова (ейкозанаова)	C _{20:0}	1415	2,69
17	35,65	Бегенова (докозанаова)	C _{22:0}	1455	2,77
18	37,10	Трикозанаова	C _{23:0}	557	1,06
19	38,52	Лігноцерінова (тетракозанаова)	C _{24:0}	1113	2,12
20	41,21	Церітинова (гексакозанаова)	C _{26:0}	1316	2,50
		Разом		52527	100

- Методом хромато-мас-спектрометрії вперше визначено компонентний склад летких сполук хлороформної фракції трави маренки запашної. Виявлено 57 сполук, з них ідентифіковано 39. Серед них вуглеводні (63,22 % від суми летких сполук), вищі жирні кислоти та їх ефіри (13,42 %), альдегіди (2,28 %), терпеноїди (2,17 %).
- В результаті дослідження метилових ефірів жирних кислот виявлено, що до складу ліпофільної фракції входять 20 жирних кислот, з них 16 насичених і 4 ненасичених. Встановлено, що домінуючим компонентом є пальмітинова кислота, вміст якої становить 63,72 % від суми жирних кислот.
- Компоненти ефірної олії *Asperula odorata* L. / Т.В. Ільїна, А.М. Ковальова, О.В. Горяча та ін. // Український біофармацевтичний журнал, 2010. – № 6 (11). – С. 58-61.
- Фітохімічне дослідження трави маренки запашної / Ковальова А.М., Ільїна Т.В., Лебедин А.М. [та ін.]. // Фармакогнозія ХХІ століття. Досягнення та перспективи: Тези доп. ювілейної наук.-практ. конф. з міжнар. участю. – Харків, 26 березня 2009 р. – 305 с., 102 с.
- Флора УРСР. Київ: Вид-во АН УРСР, 1960. – Т. 10.
- Черногород Л.Б. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea* L., содержащие флавоноиды / Л.Б. Черногород, В.А. Виноградов // Растительные ресурсы. – С.-Пб.: – 2006. – Т. 42., Вып. 2. – С. 61-68.
- Direct resistively heated column gas chromatography (Ultrafast module-GC) for high-speed analysis of essential oils of differing complexities / [Bicchi C., Brunelli C., Cordero C. et al.] // J. Chromatogr. A. – 2004. – №1-2., –V. 1024. – P. 195-207.
- Carrapiso AI. Development in lipid analysis: some new extraction techniques and in situ transesterification / AI Carrapiso, C. Garcia // Lipids, 2000 Nov. – № 35 (11). – P. 1167-77.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Изучение липофильных соединений травы *Asperula odorata* L. и их биологической активности / Т.В. Ильина, А.М. Ковалева, Н.С. Юрченко и др. // Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализации: Материалы науч.-практ. конф. с международ. участ., посвящ. 75-летию Пермской госуд. фарм. акад. (7-9 декабря 2011 года), – Пермь, 2011. – С. 85-87.

УДК 543.51:582.972.3:665.12

Н. С. Юрченко, Т.В. Ильина, А.М. Ковалева

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ХЛОРОФОРМНОЙ ФРАКЦИИ ТРАВЫ ЯСМЕННОКА ДУШИСТОГО

Методом хромато-масс-спектрометрии проведено изучение компонентов липофильной фракции травы ясменника душистого (*Asperula odorata* L.). В результате исследования выявлено и установлено количественное содержание 57 летучих соединений, из которых идентифицировано 39. Жирнокислотный состав представлен 16 насыщенными и 4 ненасыщенными жирными кислотами. Доминирующей является пальмитиновая кислота.

Ключевые слова: ясменник душистый, хлороформная фракция, терпеноиды, углеводороды, жирные кислоты.

UDC 543.51:582.972.3:665.12

N.S. Yurchenko, T. V. Ilyina, A.M. Kovalyova

STUDY THE COMPOSITION OF CLOROFORM FRACTION

OBTAINED FROM SWEET WOODRUFF'S HERB

Study the composition of lipophilic fraction from sweet woodruff's (*Asperula odorata* L.) herb has been performed by the method of chromatography-mass spectrometry. In the current study was revealed 57 volatile compounds from which 39 ones were identified and quantitatively determined. Fatty-acid composition is represented by 16 saturated acids and 4 unsaturated ones. The prevailing content of palmitic acid in the chloroform fraction has been established.

Key words: sweet woodruff, chloroform fraction, terpenoids, hydrocarbons, fatty acids.

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.
Кафедра фармакогнозії НФАУ.
Тел. моб. (096) 825-43-73.
E-mail: n-yurchenko88@ukr.net

Надійшла до редакції:
05.12.2011