УДК: 615.32:582.972.3:577.115.3:543.42.062

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ТРАВЫ ЯСМЕННИКА ВОСЬМИЛИСТНОГО

Н.С. ЮРЧЕНКО
Т.В. ИЛЬИНА
А.М. КОВАЛЕВА

Национальный фармацевтический университет, Украина, г. Харьков

e-mail:
n-yurchenko88@ukr.net

В статье приведены результаты хромато-масс-спектрометрического исследования карбоновых кислот травы ясменника восьмилистного (AsperulaoctonariaKlokov). В исследуемом сырье идентифицировано 22 карбоновые кислоты, из которых 18 относятся к жирным кислотам. В составе жирнокислотного комплекса доминирующими компонентами являются пальмитиновая, линоленовая и линолевая кислоты. Из органических кислот преобладают азелаиновая и феруловая кислоты. Титриметрическим методом установлена общая кислотность сырья, которая составляет 0,81%. Состав карбоновых кислот травы ясменника восьмилистного изучен впервые.

Ключевые слова: ясменник восьмилистный, хромато-масс-спектрометрия, карбоновые кислоты.

Семейство мареновых (RubiaceaeJuss.) во флоре Украины широко представлено родами подмаренник (GaliumL.), круциата (CruciataMill.) и ясменник (AsperulaL.). Ранее нами исследовались представители родов GaliumL. и CruciataMill. Продолжая изучение представителей семейства Rubiaceae, мы исследовали ясменник восьмилистный (AsperulaoctonariaKlokov.), распространенный в юго-восточной Европе, на Кавказе,Средней Азии, на территории Украины – в Степи на сухих, каменистых склонах, лугах, а также в северной части Крыма. В народной медицине используется надземная часть растения, собранная во время цветения. Настои из травы ясменника восьмилистного обладают мочегонным, потогонным, седативным, в также антисептическим и ранозаживляющим действием, регулируют обмен веществ в организме.

Проведенными ранее исследованиями в данном виде выявлены фенолкарбоновые кислоты, кумарины, флавоноиды, дубильные вещества, иридоиды, в подземных органах– антраценпроизводные [3, 4].

Цельнашей работы заключалась в изучении карбоновых кислот травы Asperula octonaria Klokov.

Материалы и методы. Объектом исследования стала воздушно-сухая трава ясменника восьмилистного, заготовленная в фазе цветения в июне 2012 г. в Харьковской области Украины (гербарный образец № 18/12, хранится в Гербариуме на кафедре фармакогнозии НФаУ).

Общую кислотность исследуемых образцов определяли титриметрическим методом. Точную навеску сырья (1,0975г) помещали в коническую колбу со шлифом, заливали 50мл 70% спирта этилового, присоединяли обратный холодильник и нагревали на водяной бане в течение 30 минут. Полученное извлечение охлаждали и фильтровали через бумажный фильтр. Пипеткой отбирали 10мл извлечения, помещали в колбу вместимостью 500мл, добавляли 200мл дистиллированной воды, 1мл 1% спиртового раствора фенолфталеина, 2мл 0,1% раствора метиленового синего и титровали 0,1М раствором едкого калия до появления лилово-розового окрашивания пены.

Хромато-масс-спектрометрическое исследование карбоновых кислот проводили на хроматографе Agilent Technology 6890N с масс-спектрометрическим детектором 5973N [5, 6]. Перед хроматографированием проводили предварительную пробоподготовку исследуемых образцов. Для этого к 50 мг навески сырья в виале на 2мл добавляли внутренний стандарт (раствор 50 мкг тридекана в гексане) и 1мл метилирующего агента (14% раствор BCl_3 в метаноле, Supelco 3-3033). Смесь выдерживали в герметически закрытой виале 8 часов при 65°С, отфильтровывали и фильтрат разводили 1 мл дистиллированной воды. Метиловые эфиры экстрагировали 0,2мл хлористого метилена, аккуратно встряхивая несколько раз в течениечаса, полученное извлечение хроматографировали. Введение пробы (2мкл) в хроматографическую колонку проводили в режиме splitless (без разделения потока). Скорость введения пробы 1,2 мл/мин в течение 0,2 мин. Хроматографическая колонка капиллярная INNOWAX, с внутренним диаметром 0,25 мм и длиной 30 м. Скорость газа-носителя (гелия) 1,2 мл/мин. Температура детектора и испарителя – 250°С. Температура термостата программируется от 50°С до 250°С со скоростью 4 град/мин.

Для идентификации компонентов использовали данные библиотеки масс-спектров NIST05 и WILEY 2007 с общим количеством спектров более 470000 вместе с программами для

идентификации AMDIS и NIST. Содержание веществ рассчитывали относительно внутреннего стандарта.

Результаты. Результаты исследования карбоновых кислот травы ясменника восьмилистного приведены ниже (см. рис., табл.).

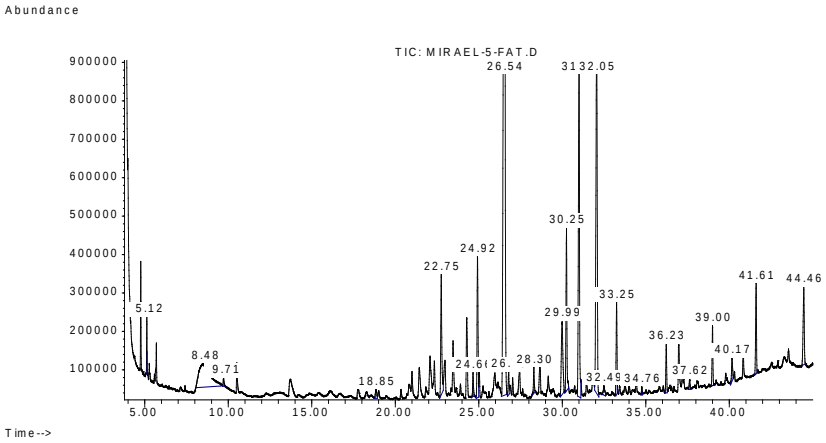

Рис. Схема хроматограммы метиловых эфиров кислот травы ясменника восьмилистного

Таблица

Идентифицированные карбоновые кислоты травы ясменника восьмилистного

№ п/п	Время удерживания, мин.	Соединение	Содержание, мг/1000 гсырья	Содержание, % от суммы карбоновых кислот
1	2	3	4	5
1	5,12	Капроновая (6:0)	101,6	0,71
2	9,71	Щавелевая кислота	35,4	0,25
3	18,84	Лауриновая (12:0)	55,5	0,39
4	22,75	Миристиновая (14:0)	586,7	4,1
5	24,65	Пентадекановая (15:0)	94,4	0,65
6	24,92	Азелаиновая кислота	625,4	4,27
7	26,53	Пальмитиновая (16:0)	5939,3	40,58
8	26,79	Пальмитолеиновая (16:1ω7)	100,6	0,7
9	28,29	Гептадекановая (17:0)	107,3	0,31
10	29,99	Стеариновая (18:0)	540,1	3,71
11	30,25	Олеиновая (18:1ω9)	689,4	4,71
12	31,00	Линолевая (18:2ω6)	1761,0	12,13
13	32,05	Линоленовая (18:3ω3)	2207,0	15,18
14	32,48	Ванилиновая кислота	61,4	0,43
15	33,25	Арахиновая (20:0)	370,6	2,54
16	34,75	Хенейкозеновая (21:1)	28,6	0,22
17	36,23	Докозановая (22:0)	192,5	1,31
18	37,62	Трикозановая (23:0)	42,9	0,31
19	38,99	Тетракозановая (24:0)	224,5	1,53

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5
20	40,16	Феруловая кислота	111,9	0,77
21	41,61	Гексакозановая (26:0)	360,1	2,47
22	44,46	Октакозановая (28:0)	399,7	2,73
Сумма кислот			14635,9 (1,46%)	100,00
Сумма насыщенных жирных кислот			9015,2	61,34
Сумма ненасыщенных жирных кислот			4786,6	32,94

Сумма кислот, определенная титриметрическим методом, составляет 0,81%, методом хромато-масс-спектрометрии – 1,46%.

Обсуждение результатов. В исследуемом сырье идентифицировано 22 карбоновые кислоты, из которых 18 относятся к жирным кислотам. Двухосновные предельные карбоновые кислоты (азелаиновая и щавелевая) составляют 4,52%, фенолкарбоновая ванилиновая и гидроксикоричная феруловая кислоты – 1,2% от суммы карбоновых кислот. В составе жирнокислотного комплекса – относительно редко встречающиеся жирные кислоты с нечетным количеством углеводородов – пентадекановая, гептадекановая, хенейкозановая и трикозановая. Доминирующими компонентами являются пальмитиновая (40,58%), линоленовая (15,18%), линолевая (12,13%), олеиновая (4,71%), миристиновая (4,10%) и азелаиновая (4,27%) кислоты.

Особую фармакологическую ценность представляют ненасыщенные жирные кислоты, содержание которых составляет 32,94% от суммы кислот соответственно.

Научный интерес представляют (мг/1000 г экстракта) линолевая – 1761,0 и линоленовая кислоты – 2207,0 которые относятся к незаменимым жирным кислотам, необходимым для нормальной жизнедеятельности организма. Установлена их цитостатическая и антипролиферативная активность по отношению к опухолевым клеткам на моделях in vitro [1].

Линолевая кислота (12,13%), относящаяся к жирным кислотам семейства n-6 (омега-6), является структурным элементом клеточных мембран, регулирует обмен холестерина, участвует в образовании тканевых гормонов – простагландинов, является биохимическим предшественником линоленовой и арахидоновой кислот.

Линоленовая кислота (15,18%) относится к жирным кислотам семейства n-3 (омега-3), которые проявляют антиаритмическое, гипотензивное, гипокоагуляционное, антиагрегантное, противовоспалительное и иммуномодулирующее действие. Ингибируя активность ферментов циклооксигеназы, липоксигеназы, протеинкиназы и фосфолипаз, которые инициируют опухолевую трансформацию, омега-3 жирные кислоты проявляют достаточно выраженный противоопухолевый эффект.

Состав карбоновых кислот травы ясменника восьмилистного отличается наличием азелаиновой, ванилиновой и феруловой кислот, обладающих бактериостатической активностью и подавляющих рост и активность аномальных меланоцитов, что создает предпосылки для разработки субстанций с определенной активностью [1].

Особого внимания заслуживает феруловая кислота, которая за счет мощного антиоксидантного действия обладает широким спектром фармакологической активности – противовоспалительной, антиагрегантной, противоопухолевой, гепатопротекторной, антибактериальной и противовирусной наряду с низкой токсичностью. Недавними исследованиями доказана также выраженная кардиопротекторная и антиаритмическая активность феруловой кислоты [1, 2].

Выводы.

1. Впервые методом хромато-масс-спектрометрии в траве ясменника восьмилистного идентифицировано 22 карбоновые кислоты, 18 из которых относятся к жирным кислотам.

2. В состав жирнокислотного комплекса входит 5 ненасыщенных кислот, содержание которых составляет 61,34% от суммы кислот, среди которых фармакологическую ценность представляют линолевая (12,13%) и линоленовая (15,18%) кислоты.

3. Наличие азелаиновой и фенолкарбоновых кислот свидетельствуют о перспективности разработки субстанций с определенной фармакологической активностью и углубленного изучения их действия.

Литература

1. Верещагин, А.Л. О механизме ростостимулирующего действия сверхмалых доз природных органических кислот / А.Л. Верещагин, В.В. Кропоткина, А.Н. Хмелева // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2006. – № 1. – С. 46-48.
2. Дьяков, А.А. Противоаритмическое действие феруловой кислоты / А.А. Дьяков, В.Н. Перфилова, И.Н. Тюренков // Вестник аритмологии. – 2005. – № 39. – С. 49-52.
3. Ильина, Т.В. Изучение липофильных соединений травы *Asperulaodorata*L. и их биологической активности / Т.В. Ильина, А.М. Ковалева, Н.С. Юрченко, Н.В. Кашпур, А.Ю. Волянский // Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализации: Материалы научно-практической конференции с международным участием, посвященной 75-летию Пермской государственной фармацевтической академии (7-9 декабря 2011 г.), Пермь, 2011. – С. 85-87.
4. Юрченко, Н.С. Дослідження складу хлороформної фракції трави маренки запашної / Н.С. Юрченко, Т.В. Ільїна ,А.М. Ковальова. // Український біофармацевтичний журнал. – 2012. – № 3(20). – С. 72-76.
5. Guilherme, L.S. Applicationofacetatederivativesforgaschromatography-massspectrometry: novelapproachesoncarbohydrates, lipids and amino acids analysis / L. S. Guilherme, L.M. Souza, R.V. Serrato, T.R. Cipriani, P. A. Gorin, M. Lacomini // Journal of Chromatography A. – 2008. Oct. – Vol. 1-2(24). – P.215-222.
6. Lee, J.W. Simultaneous profiling of polar lipids by supercritical fluid chromatography tandem mass spectrometry with methylation / J.W. Lee, S. Nishiumi, M. Yoshida, E. Fukusaki, T. Bamba // Journal of Chromatography *A*. – 2013. – № 1 (1279). – P. 98-107.

STUDY OF CARBONIC ACIDS OF ASPERULA OCTONARIA HERB

N.S. YURCHENKO
T.V. ILYINA
A.M. KOVALYOVA

National University of Pharmacy, Ukraine, Kharkov

e-mail:
n-yurchenko88@ukr.net

In the article the results of chromatography-mass spectrometry investigation of carbonic acids of (*Asperula octonaria* Klokov) herb have been presented. Twenty two carbonic acids eighteen of which belongs to fatty acids were identified in the raw material. The dominant compounds of lipophilic complex are represented by palmitic, linoleic and linolenic acids. Azelaic and ferulic acids dominate among organic acids. General acidity was determined by titration method and made up 0,81%. The carbonic acids of woodruff herb were studied for the first time.

Key words: woodruff, chromatography-mass spectrometry, carbonic acids.