

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

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ХЛОРОФОРМНОЙ ФРАКЦИИ ТРАВЫ ЯСМЕННОКА РАСПРОСТЕРТОГО

Национальний фармацевтичний університет, г. Харків

Ключові слова: маренка сланка, хромато-мас-спектрометрія, жирні кислоти, терпеноїди, вуглеводні.**Ключевые слова:** ясменник распростертый, хромато-масс-спектрометрия, жирные кислоты, терпеноиды, углеводороды.**Key words:** spreading bedstraw, chromatography-mass spectrometry, fatty acids, terpenoids, hydrocarbons.

Методом хромато-мас-спектрометрії вивчено компонентний склад хлороформної фракції трави маренки сланкої. Виявлено та встановлено вміст 40 сполук, з яких 26 ідентифіковано. Серед них терпеноїди, вищі вуглеводні. Жирнокислотний склад представлений 22 сполуками, з них 15 насичені і 7 ненасичені. Домінуючим компонентом є пальмітинова кислота, вміст якої складає 44,47% від суми жирних кислот.

Методом хромато-масс-спектрометрії изучен компонентный состав хлороформной фракции травы ясменника распростертого. Виявлено и установлено содержание 40 соединений, из которых 26 идентифицировано. Среди них *терпеноиды*, высшие углеводороды. Жирнокислотный состав представлен 22 веществами, из них 15 насыщенные и 7 ненасыщенные. Доминирующим компонентом является пальмитиновая кислота, содержание которой составляет 44,47% от суммы жирных кислот.

Study the composition of lipophilic fraction obtained from spreading bedstraw's herb has been performed by the method of chromatography-mass spectrometry. In the current study 40 compounds were revealed and determined from which 26 ones were identified. Among them, terpenoids, higher hydrocarbons. Fatty-acid composition is represented by 22 compounds which 15 ones are saturated and 7 ones are unsaturated. The prevailing content of palmitic acid 44,47% from the sum of fatty acids has been established.

Род ясменник (*Asperula* L.) относится к семейству мареновых (*Rubiaceae* Juss.), насчитывает около 200 видов, распространенных на территории Евразии. В Украине встречается около 40 видов этого рода, среди них половина – эндемики Крыма. Одним из представителей рода *Asperula* является ясменник распростертый (*Asperula humifusa* (M. B.) Bess.) – многолетнее травянистое растение с распростертыми побегами длиной 40–100 см и тонким ползучим корневищем. Распространен в Европе, на Кавказе, в Малой, Передней и Средней Азии (исключая пустыни) [4].

С лечебной целью в народной медицине используется трава и корневище при пневмонии, эндометрите, гепатите, заболеваниях почек, вызванных травмой, при внутренних кровоизлияниях, диарее, энтероколитах [3].

При предварительном фитохимическом исследовании установлено, что корневище ясменника распростертого содержит дубильные вещества, антрахиноны. В траве обна-

ружены иридоиды, витамин С, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, эфирное масло [1–3]. Системные исследования липофильных соединений не проводили.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определение компонентного состава хлороформной фракции травы *Asperula humifusa* (M. B.) Bess.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования была хлороформная фракция, полученная путем исчерпывающей экстракции хлороформом в аппарате Сокслета травы *Asperula humifusa*, заготовленной в фазу цветения летом 2011 г. в окрестностях г. Евпатории (АР Крым).

Для отгонки летучих соединений использовали виалы «Agilent» на 22 мл (part number 5183-4536) с открытыми крышками и силиконовым уплотнителем. В процессе отгонки вещества адсорбировались на внутренней поверхности обратного холодильника, после охлаждения системы

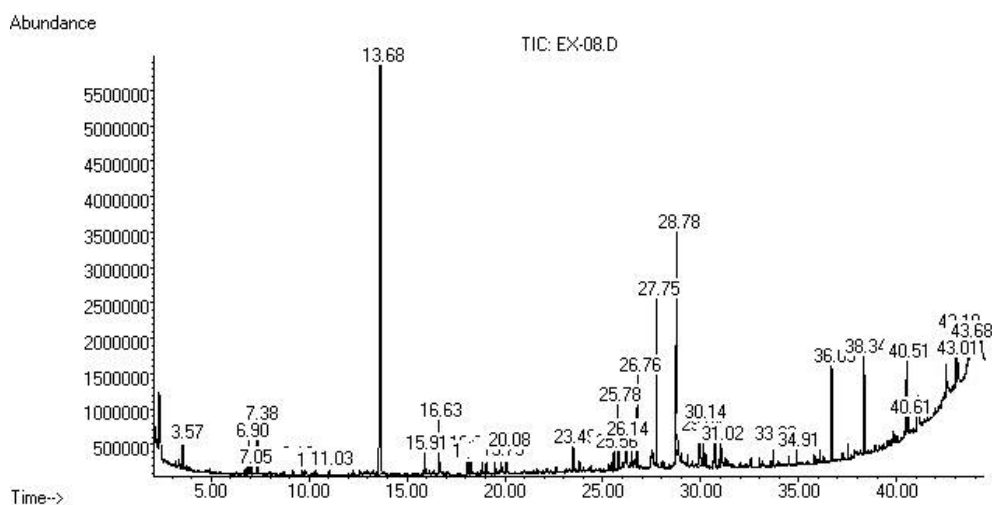


Рис. 1. Схема хроматограммы компонентов хлороформной фракции ясменника распростертого.

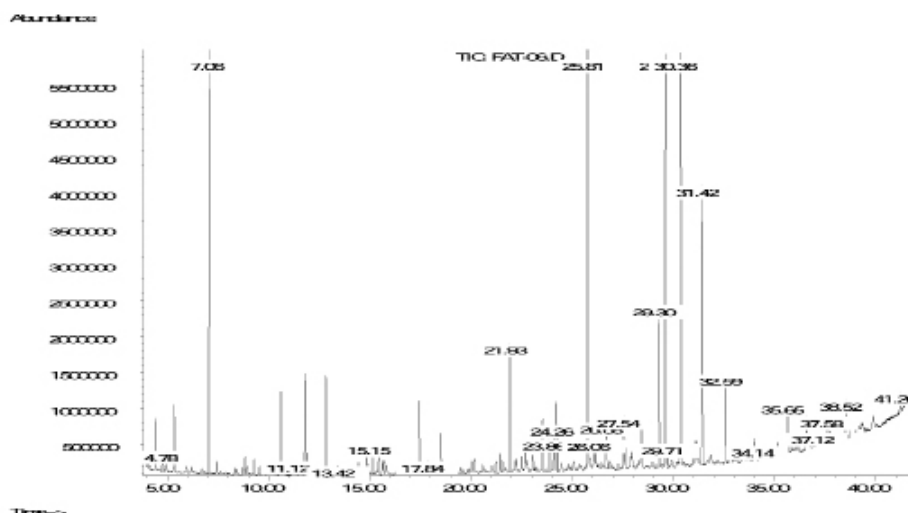


Рис. 2. Схема хроматограммы метиловых эфиров жирных кислот хлороформной фракции травы ясменника распростертого.

их смывали медленным добавлением 3 мл особо чистого пентана в сухую виалу на 10 мл. Смыв концентрировали продувкой (100 мл/мин) особо чистого азота до остаточного объема экстракта 10 мкл, который полностью отбирали хроматографическим шприцем. Дальнейшее концентрирование пробы проводили в самом шприце до объема 2 мкл. Ввод

пробы в хроматографическую колонку проводили в режиме *splitless*. В качестве внутреннего стандарта использовали тридекан, относительно которого рассчитывали содержание компонентов смеси [5].

Для детального анализа жирнокислотного состава проводили предварительную подготовку образца экстракта, которая заключается в метилировании жирных кислот 14% раствором BCl_3 в метаноле с целью получения летучих производных с низкой температурой кипения. Смесь выдерживали в герметически закупоренной виале в течение 8 часов при 65°C. Метиловые эфиры жирных кислот экстрагировали хлористым метиленом [7].

Состав хлороформной фракции исследовали хромато-масс-спектрометрическим методом на хроматографе Agilent Technology 6890N с масс-спектрометрическим детектором 5973N. Условия анализа: хроматографическая колонка кварцевая, капиллярная DB-5 (для определения компонентов до метилирования) и INNOWAX (для определения компонентов после метилирования) диаметром 0,25 мм и длиной 30 м. Внутренний диаметр 0,25 мм. Газ-носитель – гелий. Скорость газа-носителя 1 мл/мин. Объем пробы – 0,1-0,5 мкл. Скорость ввода пробы 1,2 мл/мин в течение 0,2 мин. Температура термостата 50°C с программированием 4°/мин до 220°C. Температура детектора и испарителя 250°C [6].

Соединения идентифицировали по результатам сравнения полученных в процессе хроматографирования масс-спектров химических веществ, которые входят в состав исследованной смеси, с данными библиотеки масс-спектров NIST05 и WILEY 2007 с общим количеством спектров более 470000 вместе с программами для идентификации AMDIS и NIST.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования в хлороформной фракции травы ясменника распростертого методом хромато-масс-спектрометрии выявлено и установлено содержание 40 соединений, из которых 26 идентифицированы (рис. 1, табл. 1). Содержание летучих компонентов в хлороформной фракции составляет 0,87%.

Таблица 1

Идентифицированные соединения хлороформной фракции травы ясменника распростертого

Время удерж., мин	Соединение	Содержание, мг/1000г
3,54	2,4-Пентандион	79,9
3,57	Гексаналь	158,9
6,89	4-Метил-4-пентен-2-он	229,8
7,04	2-Пентилфуран	42,2
7,38	Транс-2-гептеналь	322,4
9,15	Транс-2,4-гептадиеналь	65,9
10,31	Транс-2-октеналь	26,0
11,02	Нонаналь	46,3
16,63	Транс-2-деценаль	334,2
18,09	2,7,10-Триметилдодекан	131,2
18,21	Цис-2,4-декадиеналь	73,4
18,83	3-Этил-4-метил-1Н-пиррол-2,5-дион	79,7
19,05	Транс-2,4-декадиеналь	103,9
19,48	Пентадекан	66,0
20,07	Транс-карвоноксид	126,2
25,56	Дигидроактинидиолид	96,7
25,78	Цис-неофитадиен	335,9
26,14	Миристиновая кислота	113,7
26,76	Додеканон-2	353,5
28,78	Пальмитиновая кислота	1842,1
29,94	Лолиолид	395,0
31,02	Стеариновая кислота	74,8
34,9	Гептакозан	67,5
36,68	Нонакозан	425,4
40,51	Стигмастерол	412,8
43,01	γ-Ситостерол	181,4



Жиры кислоты хлороформной фракции травы ясменника распростертого

Время удерж., мин	Кислота	Общая формула	Содержание во фракции, мг/кг	Содержание в смеси жирных кислот, %
4,77	Капроновая	C _{6:0}	293	0,47
11,12	Нонановая	C _{9:0}	230	0,37
13,42	Каприновая	C _{10:0}	89	0,14
17,83	Лауриновая	C _{12:0}	199	0,32
21,92	Миристиновая	C _{14:0}	2043	3,30
23,86	Пентадекановая	C _{15:0}	642	1,04
24,26	Пентадеценная	C _{15:1}	767	1,24
25,8	Пальмитиновая	C _{16:0}	27496	44,47
26,06	7-Октадеценная	C _{18:1n7}	551	0,89
26,68	Пальмитолеиновая	C _{16:1}	880	1,42
27,54	Гептадекановая	C _{17:0}	767	1,24
29,29	Стеариновая	C _{18:0}	2991	4,84
29,6	Олеиновая	C _{18:1n9}	7478	12,09
29,71	10-Октадеценная	C _{18:1n10}	431	0,70
30,36	Линолевая	C _{18:2n9,12}	7628	12,34
31,41	Линоленовая	C _{18:3n9,12,15}	5000	8,09
32,58	Арахидиновая	C _{20:0}	1627	2,63
34,14	Хенейкозановая	C _{21:0}	278	0,45
35,65	Бегеновая	C _{22:0}	942	1,52
37,11	Трикозановая	C _{23:0}	288	0,47
38,52	Лигноцеринная	C _{24:0}	811	1,31
41,2	Церотиновая	C _{26:0}	405	0,65
Итого			61833	100

Выявлены терпеноиды (25,02%): транс-карвоноксид (2,04%), дигидроактинидиолид (1,56%), лолиолид (6,39%), цис-неофитадиен (5,43%), стигмастерол (6,67%), γ -ситостерол (2,93%); углеводороды (11,16%): 2,7,10-триметилдодекан (2,12%), пентадекан (1,07%), гептакозан (1,09%), наокозан (6,88%); альдегиды и кетоны (25,27%): пентилфуран (0,68%), гексаналь (2,57%), транс-2-гептеналь (5,21%), транс-2,4-гептадиеналь (1,07%), транс-2-октеналь (0,42%), нонаналь (0,75%), транс-2-деценаль (5,4%), цис-2,4-декадиеналь (1,19%), транс-2,4-декадиеналь (1,68%), 2,4-пентандион (1,29%), 4-метил-4-пентен-2-он (3,72%), 3-этил-4-метил-1Н-пиррол-2,5-дион (1,29%); жирные кислоты (32,83%): миристиновая (1,84%), пальмитиновая (29,78%), стеариновая (1,21%).

После предварительного метилирования определен жирнокислотный состав хлороформной фракции (рис. 2, табл. 2). Содержание жирных кислот во фракции составляет 6,18%.

Выявлены 22 жирных кислоты, из которых 15 насыщенных и 7 ненасыщенных. Содержание насыщенных кислот составляет 64,47% от суммы жирных кислот, ненасыщенных – 35,53%. Доминирующим компонентом является пальмитиновая кислота (44,47%).

ВЫВОДЫ

Получена липофильная фракция травы ясменника распростертого, выход которой составляет 2,96%.

Методом хромато-масс-спектрометрии впервые изучен компонентный состав хлороформной фракции, в которой выявлено и установлено количество 40 летучих соединений, из них 26 идентифицировано. Обнаружены терпеноиды (25,02% от суммы летучих соединений), углеводороды (11,16%); альдегиды и кетоны (25,27%); жирные кислоты (32,83%).

Содержание жирных кислот во фракции, определенное после предварительного метилирования, составляет 6,18%. Выявлены 22 жирные кислоты, из которых 15 насыщенных (64,47% от суммы жирных кислот) и 7 ненасыщенных (35,53%). Доминирующим компонентом является пальмитиновая кислота (44,47%).

Полученные результаты создают предпосылки для рассмотрения травы ясменника распростертого как перспективного источника биологически активных веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ковальова А.М. Компоненти ефірної олії *Galium humifusum* Vieb. / Ковальова А.М., Ільїна Т.В., Горяча О.В. // Український біофармацевтичний журнал. – 2010. – №1 (6). – С. 49–52.



2. Хроматографічне дослідження фенілпропаноїдів трави *Galium humifusum* Vieb. / Ільїна Т.В., Ковальова А.М., Горяча О.В., Гриценко О.М. // Зб. трудів НМАПО. – 2010. – Вип. 19, кн. 3. – С. 624–631.
3. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Caprifoliaceae – Plantaginaceae – Л.; Наука, 1990. – 326 с.
4. Флора Европейской части СССР. Т. 3. – М.: Наука, 1978. – 259 с.
5. Черногород Л.Б. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea* L., содержащие фразанол / Черногород Л.Б., Виноградов Б.А. // Растительные ресурсы. – СПб, 2006. – Т. 42, вып. 2. – С. 61–68.
6. 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., Rubiolo P. and others // J. Chromatogr. A. – 2004. – V. 1024. – №1–2. – P. 195–207.
7. Carrapiso A.I. Development in lipid analysis: some new extraction techniques and in situ transesterification / Carrapiso A.I., Garcia C. // Lipids. – 2000. – №35 (11). – P. 1167–1177.

Сведения об авторах:

Юрченко Н.С., аспирант каф. фармакогнозии НФаУ.

Ильина Т.В., к. фарм. н., доцент каф. фармакогнозии НФаУ.

Ковалева А.М., д. фарм. н., профессор каф. фармакогнозии НФаУ.

Адрес для переписки:

Юрченко Наталия Сергеевна. 61002, г. Харьков, ул. Пушкинская, 53, каф. фармакогнозии НФаУ.

Тел.: (0572) 67 92 08.

E-mail: n-yurchenko88@ukr.net

Поступила в редакцию 27.03.2012 г.