

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЛИПОФИЛЬНОЙ ФРАКЦИИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА ASTERACEAE

Ботов А.Ю., Северин А.П., Яцюк В.Я., Сипливый Г.В., Сипливая Л.Е.

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия (305041, Курск, ул. К. Маркса, 3), e-mail: dasbot777@gmail.com

Проведен хромато-масс-спектрометрический анализ сырья некоторых видов семейства Asteraceae: травы мелкопестника канадского, травы и шрота полыни горькой. Сырье изучаемых видов растений перед анализом обрабатывалось диэтиловым эфиром (мацерация) для извлечения липофильных соединений (сухие экстракты). Далее проводили кислый метанолиз, обрабатывая сухие экстракты изучаемых объектов раствором кислоты соляной в метаноле. Образовавшиеся в результате метанолиза липидные компоненты экстрагировали гексаном. Полученные экстракты силилировали, для ввода в инжектор газового хроматографа. Анализ дает состав суммарных жирных кислот, стероидов, спиртов, тяжелых терпеноидов. Примеси сахаров, аминокислот и части артефактов исключаются. В результате проведенных исследований в составе липофильной фракции травы мелкопестника канадского установлено наличие не менее 52 компонентов, в траве и шроте полыни горькой 62 и 53 компонента соответственно.

Ключевые слова: липофильная фракция, хромато-масс-спектрометрия, мелкопестник канадский, полынь горькая.

STUDYING OF THE LIPOPHILIC FRACTION CHEMICAL COMPOSITION OF SOME ASTERACEAE FAMILY SPECIES

Botov A.Y., Severin A.P., Yatsuk V.Y., Sipliviy G.V., Siplivaya L.E.

Kursk State Medical University of the Federal agency of public health and social development, Kursk, Russia (305041, Kursk, K. Marx street, 3), e-mail: dasbot777@gmail.com

A gas chromatography-mass spectrometric analysis of the raw material of some Asteraceae family species (herb of *Erigeron canadensis* L., herb and extraction cake of *Artemisia absinthium* L.) has been spent by us. Raw materials of studied plant species were treated before analysis with diethyl ether (maceration) for the extraction of lipophilic compounds (dry extracts). Then we carried out acidic methanolysis by treating dry extracts of the studied objects with a solution of hydrochloric acid in methanol. The lipid components, which formed by methanolysis were extracted with hexane. The obtained extracts subjected silylation to enter into the injector of the gas chromatograph. Through this analysis we can determine the composition of total fatty acids, sterols, alcohols and heavy terpenoids. Impurities of sugars, amino acids and artifacts were eliminated by us. As a result of the spent researches we have established the presence of at least 52 components in the lipophilic fraction of *Erigeron canadensis* L. herb and 62 and 53 components in the lipophilic fraction of herb and extraction cake of *Artemisia absinthium* L. respectively.

Key words: lipophilic fraction, gas chromatography-mass spectrometry, *Erigeron canadensis* L., *Artemisia absinthium* L.

Введение

В настоящее время в медицинской практике важное место занимают растительные лекарственные средства в связи с тем, что они обладают широким спектром биологической активности в сочетании с низкой токсичностью, что позволяет использовать их для профилактики и лечения различных заболеваний. Поиск новых источников сырья для получения отечественных фитопрепаратов является актуальной задачей. Помимо внедрения

новых, неприменяемых в официальной медицине растений, необходимо ресурсосберегающее использование отходов промышленной переработки уже разрешенного к применению лекарственного растительного сырья, что требует совершенствования технологических схем производства как существующих, так и вновь разрабатываемых лекарственных препаратов [3].

Ранее нами были проведены исследования липофильной фракции мелколепестника канадского и полыни горькой. Качественный состав пигментов в сырье изучаемых видов растений определяли с помощью специфических химических тестов и восходящей тонкослойной хроматографии, для количественного определения пигментов использовали спектрофотометрическую методику, позволяющую определять каротиноиды и хлорофиллы при их совместном присутствии [1; 4; 5].

Целью данных исследований явилось продолжение изучения веществ первичного биосинтеза, а именно химического состава липофильной фракции некоторых растений семейства Asteraceae.

Материалы и методы исследования

В качестве материала для исследования использовали надземные органы мелколепестника канадского и полыни горькой, собранные в фазу вегетации: «конец цветения – начало плодоношения» на территории Курской и Белгородской областей в 2010–2011 гг., а также шрот полыни горькой, оставшийся после получения настойки.

Определение химического состава липофильной фракции проводили с помощью хромато-масс-спектрометрического метода анализа. Для этого получали извлечения методом мацерации в течение 24 часов (экстрагент – диэтиловый эфир, гидромодуль – 1:10); полученные извлечения фильтровали, упаривали под вакуумом досуха. Сухие экстракты (3–5 мг – точные навески) обрабатывали 0,4 мл 1 М раствора соляной кислоты в метаноле при 80 °С в течение 180 минут (кислый метанолиз). Образовавшиеся при метанолизе метиловые эфиры жирных кислот и другие липидные компоненты экстрагировали гексаном. Гексан упаривали, а сухой остаток силилировали в 20 мкл БСТФА (бис-(триметилсилил)трифторацетамид) в течение 15 минут при 80 °С и разбавляли гексаном до 100 мкл. Для анализа 1 мкл смеси вводили в инжектор системы хромато-масс-спектрометра, работающего в автоматическом режиме [2; 6].

Хромато-масс-спектрометрический анализ проводили на хромато-масс-спектрометре AT-5850/5973 Agilent Technologies (США). Масс-спектрометр квадрупольный с диапазоном масс 2–950 а.е.м. имеет разрешающую способность 0,5 а.е.м. во всем рабочем диапазоне. Ионизация электронами 70 эВ. Чувствительность прибора составляет 0,01 нг по

метилстеарату. Для хроматографического разделения пробы использовали капиллярную колонку из плавленого кварца длиной 25 м и внутренним диаметром 0,25 мм. Неподвижная фаза HP-5ms Хьюлетт-Паккард с толщиной слоя 0,2 мкм. Хроматографирование проводили в режиме программирования температуры от 135 до 320 °С со скоростью 7 град./мин. Температура инжектора и интерфейса 280 °С. Обработку данных проводили с помощью штатных программ прибора. Вещества в хроматографических пиках идентифицировали с помощью библиотечных программ с базой данных масс-спектров NIST.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного анализа в составе липофильной фракции травы мелкопестника канадского установлено наличие не менее 52 компонентов, в траве и шроте полыни горькой 62 и 53 соединения соответственно: суммарных жирных кислот, стеринов, спиртов, тяжелых терпеноидов (таблицы 1, 2).

Таблица 1 – Результаты исследования состава липофильной фракции травы мелкопестника канадского методом хромато-масс-спектрометрии

Номер пика	Время удерживания, мин	Вещество (кислота)	Состав от суммы, %
1	9,475	миристиновая	2,260
2	9,489	бензол-1-[1,5-диметил-4-гексенил]-4-метил	2,090
3	10,906	пентадекановая	1,550
4	11,144	тетраметил-гексадеценол	1,960
5	11,252	тетраметил-гексадеценол	1,400
6	11,483	тетраметил-гексадеценол	1,270
7	11,557	терпен неизвестный	1,270
8	11,747	тетраметил-гексадеценол	1,610
9	12,059	гексадеценовая	1,780
10	12,344	гексадекановая	7,720
11	12,690	изо-капроновый ангидрид	1,200
12	13,029	капроновый ангидрид	1,760
13	13,327	антеизо-гептадекановая	0,290
14	13,409	гептадеценовая	0,270
15	13,551	терпенол неизвестный	0,420
16	13,687	гептадекановая	1,230
17	13,890	терпенол неизвестный	1,650

18	14,284	терпенол неизвестный	2,270
19	14,670	линолевая	8,170
20	14,738	олеиновая	4,100
21	15,023	стеариновая	4,120
22	15,742	6,10,14-триметил-пентадекан-2-ол	0,870
23	16,264	β -линоленовая кислота	1,060
24	17,031	октадекатриеновая, конъюгированная	0,670
25	17,078	октадекатриеновая, конъюгированная	0,860
26	17,254	октадекатриеновая, конъюгированная	0,530
27	17,309	октадекатриеновая, конъюгированная	0,370
28	17,533	эйкозановая кислота	1,650
29	18,360	нонадиенил-окси-ноненевая кислота	0,460
30	18,719	генэйкозановая кислота	0,690
31	19,520	н-гексакозан	0,800
32	19,872	докозановая кислота	2,020
33	20,971	трикозановая кислота	1,140
34	21,704	н-октакозан	0,870
35	21,907	2-гидрокси-докозановая кислота	1,420
36	22,056	тетракозановая кислота	2,070
37	22,918	2-гидрокси-трикозановая кислота	1,060
38	23,074	пентакозановая кислота	0,400
39	23,135	сквален	0,620
40	23,759	н-триаконтан	2,030
41	23,908	2-гидрокси-тетракозановая кислота	2,630
42	24,077	гексакозановая кислота	0,670
43	24,695	н-гентриаконтан	0,640
44	24,844	2-гидрокси-пентакозановая кислота	0,420
45	25,664	н-дотриаконтан	2,790
46	25,773	2-гидрокси-гексакозановая кислота	0,320
47	25,976	октакозановая кислота	0,330
48	26,322	моноглицерид	2,570
49	28,045	стигмастерол	6,780
50	28,771	стигмастерол (изомер)	6,360
51	29,035	амирин	3,330
52	29,510	амирин (изомер)	5,180
		Сумма	100

Таблица 2 – Результаты исследования состава липофильной фракции травы и шрота полыни горькой методом хромато-масс-спектрометрии

Номер пика	Время удерживания, мин	Вещество (кислота)	Состав от суммы, %	
			Шрот	Трава
1	6,688	лауриновая	0,488	0,556
2	6,993	азелаиновая	-	0,122
3	7,169	элемицин (триметоксиаллилбензол)	-	0,427
4	9,475	миристиновая	1,209	1,834
5	10,384	изо-пентадекановая	0,062	0,121
6	10,520	антеизо-пентадекановая	0,220	0,232
7	10,906	пентадекановая	0,497	0,379
8	11,218	гексагидрофарнезол-ацетон	0,517	0,727
9	11,802	изо-гексадекановая	0,286	0,217
10	12,053	гексадеценная кислота	0,722	1,480
11	12,337	гексадекановая	6,874	8,611
12	12,459	3-гидрокси-миристиновая	0,129	0,156
13	13,314	изо-гептадекановая	0,397	0,146
14	13,395	антеизо-гептадекановая	0,345	0,363
15	13,531	циклопропан-гептадекановая	0,243	0,191
16	13,687	гептадекановая	0,642	0,709
17	14,670	линолевая	6,943	12,326
18	14,738	олеиновая	5,980	5,846
19	15,023	стеариновая	2,664	3,931
20	15,091	2-гидрокси-пальмитиновая	0,074	0,103
21	15,396	октадеканол	0,289	0,196
22	16,922	октадекатриеновая, конъюгированная	-	0,169
23	17,031	октадекатриеновая, конъюгированная	-	0,277
24	17,078	октадекатриеновая, конъюгированная	-	0,202
25	17,166	н-триэйкозан	0,697	0,854
26	17,254	эйкозеновая кислота	-	0,137
27	17,533	эйкозановая кислота	1,559	1,944
28	17,824	эйкозанол	0,823	0,783
29	18,360	н-пентакозан	0,407	0,385

30	18,719	генэйкозановая кислота	0,357	0,256
31	18,991	генэйкозанол	-	0,145
32	19,520	н-гексакозан	2,225	3,394
33	19,764	3-гидрокси-эйкозановая кислота	-	0,143
34	19,872	докозановая кислота	2,706	2,320
35	20,096	докозанол	2,968	1,713
36	20,619	н-гептакозан	0,458	0,693
37	20,971	трикозановая кислота	0,892	0,652
38	21,161	трикозанол	0,480	0,300
39	21,704	н-октакозан	3,524	4,324
40	21,826	тетракозановая кислота	-	0,191
41	21,907	2-гидрокси-докозановая кислота	1,169	1,056
42	22,050	тетракозановая кислота	4,103	2,650
43	22,212	тетракозанол	4,864	2,097
44	22,728	н-нонакозан	0,649	0,652
45	22,918	2-гидрокси-трикозановая кислота	0,641	0,588
46	23,074	пентакозановая кислота	0,505	0,428
47	23,203	пентакозанол	0,524	0,317
48	23,759	н-триаконтан	8,235	6,710
49	23,908	2-гидрокси-тетракозановая кислота	3,186	1,941
50	24,077	гексакозановая кислота	1,881	1,884
51	24,179	гексакозанол	1,497	0,773
52	24,695	н-гентриаконтан	1,018	0,612
53	24,844	2-гидрокси-пентакозановая кислота	0,424	0,428
54	25,041	гептакозановая кислота	0,272	0,410
55	25,664	н-дотриаконтан	7,974	4,350
56	25,773	2-гидрокси-гексакозановая кислота	0,749	0,386
57	25,976	октакозановая кислота	1,535	1,837
58	26,316	октакозанол	0,425	0,812
59	27,665	эргостенол	0,972	0,640
60	27,991	стигмастерол	2,827	3,219
61	28,689	ситостерол	8,875	8,315
62	29,463	ланостадиенол	1,998	2,340
		Сумма	100	100

Заклучение

В результате проведенных исследований установлено, что химический состав липофильной фракции исследуемых объектов представлен широким спектром биологически активных соединений, определяющих актуальность дальнейшего изучения их фармакологической активности.

Список литературы

1. Ботов А.Ю. Перспективы использования мелколепестника канадского (*Erigeron canadensis* L.) как сырья для получения фитопрепаратов / А.Ю. Ботов, В.Я. Яцюк, Л.Е. Сипливая и др. // Науч. вестн. Белгородского гос. ун-та. – 2011. – № 4. – Вып. 13/2. – С. 129–134.
2. Кашутина М.В. Силилирование органических соединений / М.В. Кашутина, С.Л. Иоффе, В.А. Тартаковский // Успехи химии. – 1975. – Т. 44. – № 9 – С. 1620–1648.
3. Сафонова И.А. Изучение фенольных соединений листьев пузыреплодника калинолистного (*Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim) методом ВЭЖХ / И.А. Сафонова, В.Я. Яцюк, А.В. Кузьмина // Курский науч.-практ. вестник «Человек и его здоровье». – 2009. – № 4. – С. 127–132.
4. Северин А.П. Перспективы использования полыни обыкновенной для получения фитопрепаратов / А.П. Северин, Л.Е. Сипливая, В.Я. Яцюк // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – № 2. – С. 113–114.
5. Северин А.П. Растения рода полынь – источник получения полиенов / А.П. Северин, Л.Е. Сипливая, В.Я. Яцюк // Материалы 4-й Всероссийской с международным участием научно-методической конференции «Фармообразование – 2010». – Воронеж, 2010. – С. 338–339.
6. Хмельницкий Р.А., Бродский Е.С. Хромато-масс-спектрометрия. – М. : Химия, 1984. – С. 150–178.

Рецензенты

Шорманов В.К., д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск.

Новиков О.О., д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, ГОУ ВПО «Белгородский государственный университет», г. Белгород.