

УДК 582.916.21:577.115.3:661.74:547.58:543.544.32

DOI: 10.15587/2519-4852.2017.99317

ХРОМАТО-МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ АЛІФАТИЧНИХ, ЖИРНИХ ТА АРОМАТИЧНИХ КИСЛОТ КОРЕНЕВИЩА *VERONICA TEUCRIUM L.*

© А. П. Осьмачко, А. М. Ковальова, Т. В. Гльїна, О. М. Кошовий, Н. В. Сидора

Мета. Хромато-мас-спектрометричне визначення якісного складу та кількісного вмісту аліфатичних, ароматичних та жирних кислот у кореневищах *Veronica teucrium L.*

Методи. Об'єктом дослідження були кореневища *V. teucrium L.*, заготовлені в Харківській області у 2015 році. Аналіз метилових естерів кислот проводили з використанням хромато-мас-спектрометру 5973N/6890N MSD/DS Agilent Technologies. Введення проби до хроматографічної капілярної колонки INNOWAX (0,25 мм×30 м) проводили у режимі *splitless*. Ідентифікацію метилових естерів кислот проводили на основі розрахунку еквівалентної довжини аліфатичного ланцюга (ECL) з використанням даних бібліотеки мас-спектрів NIST 05 і Willey 2007 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST; також порівнювали час утримання естерів з часом утримання стандартних сполук (*Sigma*). Для кількісних розрахунків використовували метод внутрішнього стандарту.

Результати дослідження. Вперше проведено дослідження карбонових кислот кореневищ *Veronica teucrium L.* з використанням хромато-мас-спектрометричного методу, в результаті якого виявлено та встановлено вміст 10 аліфатичних, 16 жирних та 9 ароматичних кислот. Загальний вміст ідентифікованих карбонових кислот у кореневищах вероніки широколистої складає 3068,06 мг/% (3,07 %). Серед низькомолекулярних аліфатичних кислот домінують яблучна, лимонна та левулінова; серед жирних кислот – насичені: міристинова, пальмітинова та лігноцерінова і ненасичені: олеїнова, лінолева та ліноленова. Особливе значення мають визначені ароматичні кислоти: бензойна, фенолкарбонові: ванілінова, вератрова, *p*-гідроксibenзойна, гентизинова, бузкова та гідроксикорична: *p*-кумарова.

Висновки. Вперше в кореневищі *V. teucrium L.* виявлено та встановлено вміст 10 низькомолекулярних аліфатичних, 16 жирних та 9 ароматичних кислот з використанням методу хромато-мас-спектрометрії

Ключові слова: *Veronica teucrium L.*, аліфатичні кислоти, жирні кислоти, ароматичні кислоти, хромато-мас-спектрометрія

1. Вступ

Одним з перспективних напрямків фармації є розширення сировинної бази з метою створення на їх основі лікарських засобів. У флорі України рід *Veronica L.* родини *Plantaginaceae* Juss. представлено більш ніж 60 видами, одним із найпоширеніших видів є вероніка широколиста (*Veronica teucrium L.*) [1].

2. Постановка проблеми у загальному вигляді, актуальність теми та її зв'язок із важливими науковими чи практичними питаннями

Вероніку широколисту (*V. teucrium L.*) у 2003 р. віднесено до родини Подорожникові (*Plantaginaceae*) на основі результатів генетичного дослідження [1]. Даний вид поширений на території України та у світовій флорі [2], здавна використовується в народній медицині як терапевтичний засіб – протизапальний, відхаркувальний [2–4] та антибактеріальний [2, 4] при захворюваннях верхніх дихальних шляхів, спазмолітичний [4] та жовчогінний [4, 5] при захворюваннях печінки, детоксикаційний [2, 4], кровоспинний [2, 4, 5], проте є неофіціальним.

3. Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор

Відомо, що трава вероніки широколистої містить такі групи біологічно активних речовин (БАР): – фенілетаноїди [6, 7];

– фенолкарбонові та гідроксикоричні кислоти [2–4, 7–9];

– гідроксикумарини [2, 4, 8, 9];

– флавоноїди, які представлені лутеоліном, апігеніном та їх похідними, байкаліном, ізокверцетинном, ізорамнетинном, кемпферол-3-О-глюкозидом, гіперозидом, рутином, хризоеріолом, 4'-О-метоксискутеллареїн-7-О-глюкозидом [2–4, 8, 9];

– іридоїди, серед яких каталпол, аукубін та їх похідні [2, 4, 6, 7, 9, 10]; сапоніни [2, 4, 9]; а також, холін, вуглеводні, мікро- і макроелементи [2, 4, 9].

Досліджено сполуки первинного метаболізму та фенольні сполуки трави, квіток та листків вероніки широколистої, а також терпеноїдні сполуки ліпофільного комплексу та фенольні сполуки спиртової витяжки з трави вероніки широколистої [11, 12].

4. Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, якій присвячена стаття

Незважаючи на використання в народній медицині відвару кореневища при проносах, гастроентеритах, гепатитах, ендометритах, циститах, в післяпологовому періоді, при нервово-психічних розладах, мігрєнях та захворюваннях шкіри, з наукових першоджерел відомо про наявність лише аскорбінової кислоти у даній сировині. Тому, ідентифікація та встановлення вмісту БАР первинного і вторинного метаболізму в кореневищі вероніки широколистої є актуальним.

5. Формулювання цілей (завдання) статті

Метою дослідження було хромато-мас-спектрометричне визначення якісного складу та кількісного вмісту аліфатичних, ароматичних та жирних кислот у кореневищах *V. teucrium* L.

6. Виклад основного матеріалу дослідження з обґрунтуванням отриманих результатів

Об'єктом дослідження були кореневища *V. teucrium* L., заготовлені під час повного цвітіння рослини (до початку плодоношення) в Харківській області у 2015 році.

До 50 мг сировини у віалі на 2 мл додавали внутрішній стандарт (50 мкг тридекану в гексані) і 1,0 мл метилюючого агента – 14 % BCl_3 в метанолі (Supelco 3-3033). Суміш витримували у герметично закритій віалі 8 год при 65 °С. Для виділення метилових естерів кислот додавали 0,2 мл хлористого метилу, збовтували протягом години.

Аналіз метилових естерів кислот проводили з використанням хромато-мас-спектрометру 5973N/6890N MSD/DS Agilent Technologies. Хроматографічна капілярна колонка INNOWAX з внутрішнім діаметром 0,25 мм і 30 м завдовжки. Введення проби 2 мкл до хроматографічної колонки проводили у режимі *splitless* (без розподілу потоку), швидкість введення проби – 1,2 мл/хв, час – 0,2 хв.

Ідентифікацію метилових естерів кислот проводили на основі розрахунку еквівалентної довжини аліфатичного ланцюга (ECL). З використанням даних бібліотеки мас-спектрів NIST 05 і Willey 2007 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і

NIST. Також порівнювали час утримання з часом утримання стандартних сполук (Sigma) (рис. 1). Для кількісних розрахунків використовували метод внутрішнього стандарту. Відносний вміст кислот розраховували також у відсотках від їх загального вмісту. Отримані результати піддавали статистичній обробці (табл. 1).

В результаті дослідження вперше було ідентифіковано та встановлено вміст 35 карбонових кислот у кореневищі вероники широколистої. Серед ідентифікованих кислот 10 аліфатичних, 16 жирних та 9 ароматичних.

Серед ідентифікованих низькомолекулярних аліфатичних моно-, дикарбонових та гідроксикислот кислот: капронова, щавелева, малінова, фумарова, леулінова, бурштинова, 3-гідрокси-2-метилглутарова, яблучна, азелаїнова та лимонна. Домінуючими аліфатичними кислотами у кореневищах вероники широколистої є (мг/%) яблучна (1040,46), лимонна (352,55), леулінова (306,90).

В кореневищах ідентифіковані насичені жирні кислоти: лауринова, міристинова, пентадеканова, пальмітинова, маргарінова, стеаринова, арахідова, хенейкозанова, 2-гідроксипальмітинова, бегенова, трикозанова, лігноцерінова та ненасичені жирні кислоти: пальмітолеїнова, олеїнова, лінолева, ліноленова.

Серед насичених жирних кислот домінують (мг/%) міристинова (85,23), пальмітинова (65,19) та лігноцерінова (38,05) кислоти, серед ненасичених – олеїнова (37,74), лінолева (43,71), ліноленова (36,10) кислоти.

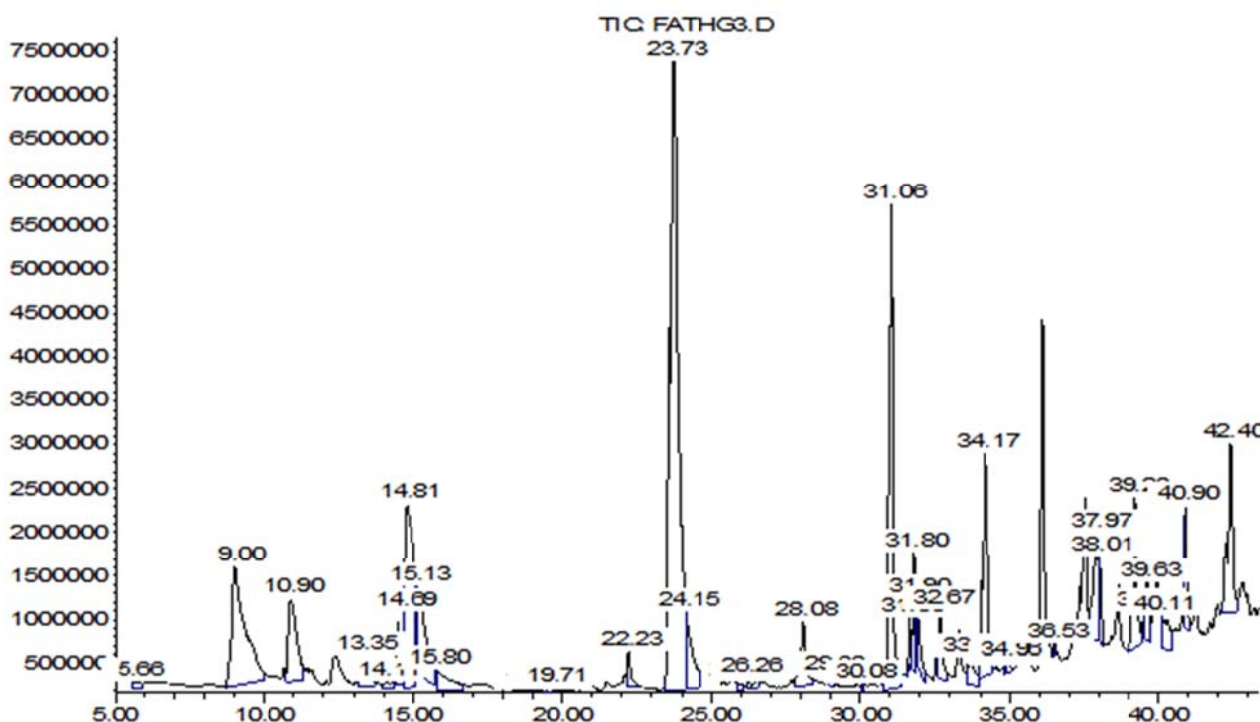


Рис. 1. Хроматографічний профіль метилових естерів карбонових кислот кореневища *V. teucrium* L.

Таблиця 1

Низькомолекулярні аліфатичні, ароматичні та жирні кислоти кореневищ *V. teucrium* L.

№ з/п	Час утримування, хв	Назва кислоти	Кількісний вміст			
			мг/кг*	%**		
				АЛ	Ж	АР
1	5,66	Капронова (гексанова)	37,5	0,12	–	–
2	9,00	Внутрішній стандарт	3012,05	–	–	–
3	10,90	Щавелева (етандіова)	1303,09	4,25	–	–
4	13,35	Маленова (пропандіова)	415,62	1,35	–	–
5	14,11	Фумарова (<i>транс</i> -бутендіова)	112,91	0,37	–	–
6	14,81	Левулінова (4-оксипентанова)	3068,97	10,00	–	–
7	15,13	Бурштинова (бутандіова)	1489,98	4,86	–	–
8	15,80	Бензойна (бензойна)	475,76	–	–	1,55
9	18,96	Фенілоцтова (α -толуїлова)	4,45	–	–	0,01
10	19,44	Саліцилова (2-гідроксибензойна)	4,18	–	–	0,01
11	19,71	Лауринова (додеканова)	17,5	–	0,06	–
12	22,23	3-Гідрокси-2-метилглутарова (3-гідрокси-2-метил пентадіова)	222,7	0,73	–	–
13	23,73	Яблучна (2-гідроксибутандіова)	10404,56	33,91	–	–
14	24,15	Міристинова (тетрадеканова)	852,28	–	2,78	–
15	25,88	Пентадеканова (пентадецилова)	59,98	–	0,20	–
16	26,26	Азелаїнова (нонандіова)	118,9	0,39	–	–
17	28,08	Пальмітинова (гексадеканова)	651,87	–	2,12	–
18	29,03	Пальмітолеїнова (<i>цис</i> -9-гексадеценена)	57,93	–	0,19	–
19	30,08	Маргарінова (гептадеканова)	14,23	–	0,05	–
20	31,06	Лимонна (2-гідрокси-1,2,3-пропантрикарбонена)	3525,47	11,49	–	–
21	31,66	Стеаринова (октадеканова)	163,69	–	0,53	–
22	31,80	Вератрова (3,4-диметоксибензойна)	576,2	–	–	1,88
23	31,90	Олеїнова (<i>цис</i> -9-октадеценена)	377,44	–	1,23	–
24	32,67	Лінолева (9,12-октадекадієнова)	437,14	–	1,42	–
25	33,71	Ліноленова (<i>цис,цис,цис</i> -6,9,12-октадекатрисєнова)	361,04	–	1,18	–
26	34,17	Ванілінова (4-гідрокси-3-метоксибензойна)	2076,60	–	–	6,77
27	34,84	2-Гідроксипальмітинова (2-гідроксигексадеканова)	22,25	–	0,07	–
28	34,96	Арахінова (ейкозанова)	61,77	–	0,20	–
29	36,53	Хенейкозанова (хенейкозанова)	30,48	–	0,10	–
30	37,97	<i>p</i> -Кумарова (3-(4-гідроксифеніл)пропєнова)	1053,96	–	–	3,44
31	38,01	Бєєнова (докозанова)	285,44	–	0,93	–
32	39,23	<i>p</i> -Гідроксибензойна (4-гідроксибензойна)	1123,02	–	–	3,66
33	39,53	Трикозанова (трикозанова)	47,36	–	0,15	–
34	39,63	Бузкова (4-гідрокси-3,5-диметоксибензойна)	405,32	–	–	1,32
35	40,11	Гентизинова (2,5-дигідроксибензойна)	440,53	–	–	1,44
36	40,90	Лігноцерінова (тетракозанова)	380,48	–	1,24	–
Всього			30680,60	20699,70	3820,88	6160,02
%			100	67,47	12,45	20,08

Примітка: * – мг/кг в сировині; ** – % відсоток від суми виявлених компонентів; АЛ – аліфатичні кислоти; Ж – жирні кислоти; АР – ароматичні кислоти; «–» – не ідентифіковано

Серед ароматичних кислот ідентифіковано: бензойну, фенілоцтову, саліцилову, вератрову, ванілінову, *p*-гідроксибензойну, бузкову, гентизинову та *p*-кумарову кислоти; домінуючі ароматичні кислоти (мг/%): ванілінова (207,66), *p*-гідроксибензойна (112,30), *p*-кумарова (105,40). Слід відмітити, що ароматичні кислоти мають особливо важливе фармакологічне значення, вони проявляють різні види активності: антиоксидантну, антибактеріальну, проти-

запальну, імуномодулюючу, антивірусну, гепатопротекторну, жовчогінну, протипухлинну, антиаритмічну, гіпотензивну, антиагрегантну тощо [13, 14].

Загальний вміст ідентифікованих карбонових кислот, що містяться в кореневищі вероніки широколистої складає 3068,06 мг/% або 3,07 %. Вміст низькомолекулярних аліфатичних кислот в кореневищі складає 2069,97 мг/%, вміст жирних кислот – 382,09 мг/%, вміст ароматичних кислот – 616,00 мг/%. Вміст низькомо-

лекулярних аліфатичних кислот в кореневищах складає 67,47 %, жирних кислот – 12,45 %, ароматичних кислот – 20,08 % від загальної суми кислот.

7. Висновки

Проведено хромато-мас-спектрометричне визначення якісного складу та кількісного вмісту аліфатичних, ароматичних та жирних кислот у кореневищах *Veronica teucrium* L.

1. В кореневищі *V. teucrium* L. вперше ідентифіковано та встановлено вміст 10 низькомолекулярних аліфатичних, 16 жирних та 9 ароматичних кислот.

2. Загальний вміст ідентифікованих карбонових кислот, що містяться в кореневищі вероники широколистої складає 3,07 %. Вміст низькомолекулярних аліфатичних кислот у відсотковому відношенні від їх загальної суми в кореневищах складає 67,47 %, жирних кислот – 12,45 %, ароматичних кислот – 20,08 %.

3. Серед низькомолекулярних аліфатичних кислот домінують яблучна, лимонна та леулінова; серед жирних кислот – міристинова, пальмітинова, лігноциринова, олеїнова, лінолева, ліноленова, серед ароматичних – ванілінова, *p*-гідроксибензойна, *p*-кумарова.

Література

1. Albach, D. C. Acylated flavone glycosides from *Veronica* L. [Text] / D. C. Albach, R. J. Grayer, S. R. Jensen, F. Ozgokce, N. C. Veitch // *Phytochemistry*. – 2003. – Vol. 64, Issue 7. – P. 1295–1301. doi: 10.1016/j.phytochem.2003.08.012
2. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейство Scrophulariaceae – Plantaginaceae [Текст] / ред. Л. Беленовская, В. Корхов, М. Мац, Л. Медведева. – Л.: Наука, 1990. – 328 с.
3. Mocan, A. Phytochemical characterization of *Veronica officinalis* L., *V. teucrium* L. and *V. orchidea* Crantz from Romania and their antioxidant and antimicrobial properties [Text] / A. Mocan, D. C. Vodnar, L. Vlase, O. Crisan, A.-M. Gheldiu, G. Crisan // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2015. – Vol. 16, Issue 9. – P. 21109–21127. doi: 10.3390/ijms160921109
4. Чехирова, Г. В. Растения семейства Scrophulariaceae в тибетской медицине [Текст] / Г. В. Чехирова, Т. А. Асеева, В. К. Кашин // *Вестник бурятского государственного университета*. – 2012. – № С/2012. – С. 181–184.
5. Гусев, Н. Ф. Поиск витаминных растений в степной и лесостепной зонах оренбургского предуралья [Текст] / Н. Ф. Гусев, О. Н. Немерешина // *Наука Краснодарья*. – 2012. – № 1. – С. 19–27.
6. Jensen, S. R. Veronica: Iridoids and cornoside as chemosystematic markers [Text] / S. R. Jensen, D. C. Albach, T. Ohno, R. J. Grayer // *Biochemical Systematics and Ecology*. – 2005. – Vol. 33, Issue 10. – P. 1031–1047. doi: 10.1016/j.bse.2005.03.001
7. Zivkovic, J. In vivo and in vitro antioxidant effects of three *Veronica* species [Text] / J. Zivkovic, T. Cebovic, Z. Maksimovic // *Open Life Sciences*. – 2012. – Vol. 7, Issue 3. – P. 559–568. doi: 10.2478/s11535-012-0041-4
8. Bearaa, I. Phenolic profile and anti-inflammatory activity of three *Veronica* species [Text] / I. Bearaa, J. Zivkovic, M. Lesjak, J. Ristic, K. Savikin, Z. Maksimovic, T. Jankovic // *Industrial Crops and Products*. – 2015. – Vol. 63. – P. 276–280. doi: 10.1016/j.indcrop.2014.09.034
9. Бубенчикова, В. Н. Растения рода Вероника [Текст] / В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Кондратова. – Курск: ГОУ ВПО КГМУ Росздрава, 2010. – 104 с.
10. Crisan, G. LC/MS analysis of aukubin and catalpol of some *Veronica* species [Text] / G. Crisan, L. Vlase, G. Balica, D. Muntean, C. Stefanescu, R. Paltinean et. al. // *Farmacia*. – 2010. – Vol. 58, Issue 2. – P. 237–242.
11. Osmachko, A. P. Pharmacognostic study of *Veronica teucrium* L. herb [Text] / A. P. Osmachko, A. M. Kovaleva // 2nd International Young Scientists Symposium «Plants in Pharmacy & Nutrition». – Wroclaw: Wroclaw Medical University, 2016. – P. 132.
12. Осьмачко, А. П. Дослідження фенольних речовин трави *Veronica teucrium* L. [Текст] / А. П. Осьмачко, А. М. Ковальова, Т. В. Льїна, О. М. Кошовий // *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. – 2015. – № 24 (5). – С. 118–123.
13. Nour, V. HPLC Determination of Phenolic Acids, Flavonoids and Juglone in Walnut Leaves [Text] / V. Nour, I. Trandafir, S. Cosmulescu // *Journal of Chromatographic Science*. – 2012. – Vol. 51, Issue 9. – P. 883–890. doi: 10.1093/chromsci/bms180
14. Ghasemzadeh, A. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human [Text] / A. Ghasemzadeh, N. Ghasemzadeh // *Journal of Medicinal Plants Research*. – 2011. – Vol. 5, Issue 31. – P. 6697–6703. doi: 10.5897/jmpr11.1404

Дата надходження рукопису 07.03.2017

Осьмачко Аліна Петрівна, аспірант, кафедра фармакогнозії, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: osmachkoalina5@gmail.com

Ковальова Алла Михайлівна, доктор фармацевтичних наук, професор, кафедра фармакогнозії, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: allapharm@yahoo.com

Льїна Тетяна Василівна, доктор фармацевтичних наук, доцент, професор, кафедра фармакогнозії, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: ilyinatany86@gmail.com

Кошовий Олег Миколайович, доктор фармацевтичних наук, доцент, завідувач кафедри, кафедра фармакогнозії, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: gnosity@nuph.edu.ua

Сидора Наталя В'ячеславівна, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра фармакогнозії, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: sydora2005@gmail.com