

U.D.C. 339.727 (083)

CHROMATOGRAPHIC-MASS-
SPECTROMETRIC DETERMINATION
OF COMPONENTS OF ESSENTIAL OILS
OF MELILOTUS ALBUS, MELILOTUS
TAURICUS AND MELILOTUS WOLGICUS

I.V. Grudko, Postgraduate Student
A.M. Kovaleva, Doctor of Pharmaceutics, Full Professor
Ya.S. Kolesnik, Postgraduate Student
National Pharmaceutical University, Ukraine

The authors consider the results of chromatographic-mass spectrometric study of the essential oil of sweet clover grass of the *Melilotus wolgicus*, *Melilotus tauricus* and *Melilotus albus*.

Keywords: essential oil, chromatographic-mass spectrometry method, sweet clover.

Conference participants

УДК 339.727 (083)

ХРОМАТО-МАСС-
СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
КОМПОНЕНТОВ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ
ДОННИКА БЕЛОГО, ДОННИКА
КРЫМСКОГО И ДОННИКА ВОЛЖСКОГО

Грудько И.В., аспирант
Ковалева А.М., д-р фармац. наук, проф.
Колесник Я.С., аспирант
Национальный фармацевтический университет, Украина

В статье рассматриваются результаты хромато-масс-спектрометрического изучения эфирного масла травы донника волжского, донника крымского и донника белого.

Ключевые слова: эфирное масло, метод хромато-масс-спектрометрии, донник.

Участники конференции



Digital Object Identification:

Донник (*Melilotus* Mill.) – род однолетних или двулетних травянистых растений семейства бобовых (*Fabaceae*). Род насчитывает до 20 видов. В Украине растет 8 видов, из них Государственная фармакопея Украины допускает использование целых или резаных, высушенных надземных частей 2 видов: *Melilotus officinalis* (L.) Pall. (син. *M. officinalis* (L.) Lam., *M. officinalis* (L.) Desr.) и *Melilotus altissimus* Thuill. [2]. В донниках обнаружены кумарин, дигидрокумарин, мелилотовую кислоту, флавоноиды и другие биологически активные соединения [3-6]. В народной медицине используются все виды рода Донник. Растения зарекомендовали себя эффективными средствами при бронхите, бронхиальной астме, отеках, циститах, метеоризме, при болях в области сердца, гипертонической, ишемической болезни, атеросклерозе, тромбозе, повышенной свертываемости крови.

Среди донников три вида являются белцветковыми – это донник белый, донник крымский и донник волжский. Они принадлежат к разным таксономическим группам: донник белый (*Melilotus albus* Medik.) – к подроду *Melilotus*, донник крымский (*Melilotus tauricus* (Bieb.) Ledeb.) – к подроду *Micromelilotus*, донник волжский (*Melilotus wolgicus* Poir.) – к подроду *Macromelilotus*. Эфирные масла этих видов донников практически не изучено. Поэтому сравнение компо-

нентного состава эфирных масел трех белцветковых видов донника флоры Украины приобретает особое значение.

Донник белый распространен по всей территории Украины. Донник крымский произрастает на сухих каменистых склонах, в светлых лесах, садах и виноградниках – в Крыму. Донник волжский растет преимущественно в степных зонах, на различных почвах – каштановых, черноземных, глинистых, известковых. Заходит на луга и посева, растет на территории Донецкой, Луганской и Одесской областей.

Целью этого исследования было определение компонентного состава эфирных масел полученных из травы донника белого, донника крымского и травы донника волжского. Объектами нашего исследования стали трава донника крымского и трава донника волжского гербарного фонда кафедры фармакогнозии НФаУ, а также трава донника белого заготовленная в Харьковской области летом 2010г.

Экспериментальная часть. Для отгонки эфирного масла использовали метод, который позволяет получить эфирное масло из небольшого количества сырья, наиболее полно экстрагировать компоненты эфирного масла для дальнейшего количественного и качественного анализа [1]. Состав эфирных масел исследовали на хроматографе Agilent Technology 6890N с масс-спектрометрическим детек-

тором 5973N. Условия анализа: хроматографическая колонка кварцевая, капиллярная HP-5MS. Длина колонки 30 метров. Внутренний диаметр 0,25 мм. Газ-носитель – гелий. Скорость газа-носителя 1 мл/мин. Объем пробы 0,1 - 0,5 мкл (для растворителей эфирного масла). Введение пробы с делением потока 1/50. Температура термостата 50°C с программированием 4°C/мин до 220°C. Температура детектора и испарителя 250°C.

Результаты и их обсуждение. Полученные спектры рассматривали как на основе общих закономерностей фрагментации молекул органических соединений под действием электронного удара, так и путем сравнения полученных результатов с показателями в масс-спектральной библиотеке базы данных NIST02 (более 174000 веществ). Перед проведением поиска для каждого хроматографического пика рассчитывали усредненный масс-спектр, от которого отнимали спектр фона. Идентификацию соединений проводили путем сравнения полученных масс-спектров хроматографического пика с масс-спектрами эталонных соединений с наибольшей вероятностью идентифицированных программой распознавания на массиве спектров базы данных. Количественное содержание рассчитывали по отношению площади пиков компонентов к сумме площадей всех пиков на хроматограмме (метод нормализа-

ции). Индексы удержания компонентов рассчитывали по результатам контрольных анализов эфирных масел с добавлением смеси нормальных алканов (C10-C18).

В результате в эфирном масле цветков донника белого выявлено 24 вещества, идентифицировано 21, а в эфирном масле листьев выявлено 28 соединений, из них идентифицированы 23. Среди них насыщенные и ненасыщенные углеводороды, кумарин, мелилотовая кислота, дигидрокумарин, терпеноид гексагидрофарнезилацетон, дитерпеноиды, стероидное вещество и тритерпеноид сквален.

В эфирном масле травы донника крымского выявлены 43 вещества, из них идентифицированы 29. В эфирном масле травы *Melilotus tauricus* особого внимания заслуживают такие компоненты, как кумарин, дигидрокумарин и сквален.

В эфирном масле травы донника волжского выявлены 59 веществ, из них идентифицированы 44. В эфирном масле травы *Melilotus wolgicus* отсутствует кумарин, что подтверждает литературные данные. Доминирующими компонентами эфирного масла донника волжского являются гексагидрофарнезилацетон и сквален.

Таким образом, в эфирных маслах травы донника белого, донника крымского и донника волжского идентифицированы 117 веществ и установлено их количественное содержание.

Нами были исследованы липофильные субстанции из этих видов донников и установлена антибактериальная активность, степень которой коррелирует с особенностями их химического состава. Исследуется противовоспалительное, антиоксидантное, спазмолитическое и антикоагулянтное действие полученных субстанций.

Выводы:

Исследован компонентный состав эфирных масел травы донника белого, донника крымского и донника волжского, выявлено и идентифицировано 117 веществ.

Компонентами эфирного масла травы *Melilotus albus* являются кумарин, дигидрокумарин, мелилотовая кислота, гексагидрофарнезилацетон и сквален.

Основными компонентами эфирного масла травы *Melilotus tauricus* являются кумарин, дигидрокумарин и сквален.

В эфирном масле травы *Melilotus wolgicus* отсутствует кумарин, основные компоненты – лауриновая кислота, гексагидрофарнезилацетон и сквален.

References:

1. Koval'ova A.M., Grud'ko I.V. Doslidzhennya yefirnoi olii travi *Melilotus officinalis*., Farmakognoziya KHKHÍ stolittya. Dosiagnennya i perspektivi: Tezi dop. Yuvilejnoi nauk.-prakt. konf. z mizh nar. uchastyu [Research of essential oils of the herb *Melilotus officinalis*., Pharmacognosy of the XXI century. Achievements and Perspectives: Theses of papers. Anniversary scientific and practical conference with international participation] (Kharkiv city, March, 26 2009). – Kharkiv., NFaU Publishing, 2009., p. 100.

2. Talovina G.V. Rod *Melilotus* Mill. na territorii Rossii i sopedel'nykh gosudarstv kak model'nyy ob'yeckt dlya razrabotki metodiki sokhraneniya in situ genresursov rasteniy., Formirovaniye konkurentosposobnosti molodykh uchenykh: materialy konferentsii-shkoly uchenykh i aspirantov SZNMTS Rossel'khozakademii (26 oktyabrya 2005 g., SPb – Pushkin) [The genus *Melilotus* Mill on the territory of Russia and the neighbouring countries as a model object for the development of methods for in situ conservation of plant genetic resources. Formation of competitiveness of young scientists: materials of the conference-school of scientists and graduate students of the North-West Scientific and Methodological Centre of the Russian Academy of Agricultural Sciences (October 26, 2005, SPb-Pushkin)] – Sankt-Peterburg-Pushkin, 2006., S. 32.

3. Brenda W.-Sh. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology., *Plant Physiology*. – 2001., Vol. 126., pp. 485–493.

4. Martino E., Ramaiola I., Urbano M. at all. Microwave-assisted extraction of Coumarin and related compounds

from *Melilotus officinalis* (L.) pallas as an alternative to soxhlet and ultrasound assisted extraction., *Journal of Chromatography A*. – 2006., Vol. 1125., No. 2., pp. 147–151.

 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.05.032>

5. Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002., *J. Nat. Prod.* – 2003., Vol. 66., pp. 1022–1037.

 <https://doi.org/10.1021/np030096l>

6. Smyth F.W., Ramachandran V.N., Hack C.J. et al. A study of the analytical behaviour of selected synthetic and naturally occurring coumarins using liquid chromatography, ion trap mass spectrometry, gas chromatography and polarography and the construction of an appropriate database for coumarin characterisation., *Anal. chim. acta.* – 2006., No. 2., pp. 201–210.

 <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.01.102>

Литература:

1. Ковальова А.М., Грудько І.В. Дослідження ефірної олії трави *Melilotus officinalis*., Фармакогнозія ХХІ століття. Досягнення і перспективи: Тези доп. Ювілейної наук.-практ. конф. з між нар. участю (м. Харків, 26 березня 2009 р.). – Харків., Вид-во НФаУ, 2009., С. 100.

2. Таловина Г.В. Род *Melilotus* Mill. на території Росії і сусідніх держав як модельний об'єкт для розробки методики збереження in situ генресурсів рослин., Формування конкурентоспособності молодих учених: матеріали конференції-школи учених і аспірантів СЗНМЦ Россельхозакадемії (26 жовтня 2005 г., СПб – Пушкін). – Санкт-Петербург-Пушкін, 2006., С. 32.

3. Brenda W.-Sh. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology., *Plant Physiology*. – 2001., Vol. 126., pp. 485–493.

4. Martino E., Ramaiola I., Urbano M. at all. Microwave-assisted extraction of Coumarin and related compounds from *Melilotus officinalis* (L.) pallas as

an alternative to soxhlet and ultrasound assisted extraction., *Journal of Chromatography A.* – 2006., Vol. 1125., No. 2., pp. 147–151.

 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.05.032>

5. Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002., *J. Nat. Prod.* – 2003., Vol. 66., pp. 1022–1037.

 <https://doi.org/10.1021/np030096l>

6. Smyth F.W., Ramachandran V.N., Hack C.J.et al. A study of the analytical behaviour of selected synthetic and naturally occurring coumarins using liquid chromatography, ion trap mass spectrometry, gas chromatography and polarography and the construction of an appropriate database for coumarin characterisation., *Anal. chim. acta.* – 2006., No. 2., pp. 201-210.

 <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.01.102>

Information about authors:

1. Iryna Grudko – Postgraduate Student, National University of Pharmacy; address: Ukraine, Kharkiv city; e-mail: iryshka-grudko@yandex.ru

2. Alla Kovalyova – Doctor of Pharmaceutics, Full Professor, National University of Pharmacy; address: Ukraine, Kharkiv city; e-mail:allapharm@yahoo.com

3. Yana Kolesnik – Postgraduate Student, National University of Pharmacy; address: Ukraine, Kharkiv city; e-mail: kolesnik_yasia@mail.ru

165x185