

УДК 615.322/582.951.6/543.544/543.51

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ РАСТЕНИЙ РОДА *EUPHRASIA* L.

© О.А. Кроткова, Т.В. Бомбела*, В.М. Петриченко

Пермская государственная фармацевтическая академия, ул. Полевая, 2,
Пермь, 614990 (Россия), e-mail: tatyana.bombela@yandex.ru

Методом газожидкостной хроматографии (ГХ/МС) изучен состав липофильных веществ, извлекаемых гексаном, в траве *E. officinalis* L., *E. tatarica* Fisch., *E. stricta* D. Wolff. ex J.F. Lehm., *E. x reuteri* Wettst., *E. × murbeckii* Wettst., *E. breviflora* Burnat et Gremli, *E. parviflora* Schag., произрастающих в Пермском крае. Идентифицированы: октадекан, нонадекан, эйкозан, гексакозан, гептакозан, октакозан, нонакозан, 2-нонакозанол, неофитадиен, лауриновый, миристиновый альдегиды, пальмитиновая, стеариновая, линолевая, линоленовая, олеиновая кислоты, γ -ситостерол, сквален, гексагидрофарнезиллацетон, фталевая кислота. Доминирующими являются высшие алканы, γ -ситостерол и сквален. Жирные кислоты и их альдегиды обнаружены в небольшом количестве во всех исследованных видах.

Ключевые слова: ГХ/МС, липофильные вещества, *Euphrasia*.

Введение

Род Очанка (*Euphrasia* L.), сем. норичниковые (*Scrophulariaceae* Juss.) представлен однолетними травянистыми полупаразитическими растениями, широко распространенными в умеренных зонах обоих полушарий [1]. Растения рода Очанка давно и эффективно применяются в народной медицине, гомеопатии, используются для получения биологически активных добавок, включены в фармакопеи ряда стран Западной Европы [2–4]. Установлено, что экстракционные препараты из видов рода Очанка обладают фармакологической активностью и проявляют противовоспалительное, антиоксидантное, гипотензивное и антимикробное действие, сочетающееся с низкой токсичностью [5, 6]. Скрининговые исследования растений семейства норичниковые показали, что липофильная фракция травы очанки коротковолосистой обладает высоким уровнем противолейкемической активности [7].

В последние годы значительно возрос научно-практический интерес к липофильным веществам природного происхождения, что связано с установлением широкого спектра их фармакологической активности. Например, одной из групп биологически активных веществ, проявляющих антисклеротическое действие, являются жирные кислоты и прежде всего непредельные. Такие непредельные кислоты, как линоленовая и линолевая, образуются только в растениях и входят в состав эссенциальных фосфолипидов [8, 9]. Фитостерины естественным образом присутствуют в растениях, структурно подобны холестерину и, являясь его антагонистами, обладают антиатеросклеротической, онкопрофилактической, антиоксидантной и иммуностимулирующей активностью [10]. Кроме того, исследование липофильных веществ является актуальной задачей, так как позволяет выявить химические вещества, которые обуславливают терапевтические свойства растений. Сведений о составе липофильных веществ растений рода Очанка в доступной литературе не обнаружено.

Цель настоящей работы – сравнительное изучение компонентного состава и количественного содержания липофильных веществ семи видов рода *Euphrasia*, произрастающих в Пермском крае.

Бомбела Татьяна Владимировна – доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, кандидат фармацевтических наук, e-mail: tatyana.bombela@yandex.ru
Кроткова Ольга Александровна – ассистент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, e-mail: krotkova0a@yandex.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

Экспериментальная часть

Материалом исследования служила надземная часть с корнями семи видов рода Очанка – *Euphrasia* L., сем. Норичниковые – *Scrophulariaceae* Juss.: *E. officinalis* L. – о. лекарственная; *E. tatarica* Fisch. ex. Spreng. – о. татарская; *E. stricta* D. Wolff ex. J.F. Lehm. – о. прямая; *E. × reuteri* Wettst. – о. Рейтера; *E. × murbeckii* Wettst. – о. Мурбека; *E. brevipila* Burn. et Gremlı – о. коротковолосистая; *E. parviflora* Schag. – о. мелкоцветная. Образцы заготавливали в фазу цветения – начало плодоношения в период с 2007 по 2008 г. в Пермском крае (табл. 1). Сырье сушили до сухого состояния на воздухе в тени.

Приготовление извлечения для хроматографирования: 1,0 г измельченного сырья заливали гексаном в соотношении 1 : 10 и нагревали с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 60 мин. Извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводили объем раствора до метки гексаном и перемешивали.

Анализ липофильных веществ проводили на газовом хроматографе Hewlett – Packard 5890/II (США) с квадрупольным масс-спектрометром (MS) (HP MSD 5971). Условия хроматографического разделения: колонка кварцевая HP-5 (5% фенильных групп) длиной 30 м и внутренним диаметром 0,25 мм, толщиной пленки неподвижной фазы 0,25 мкм, газ-носитель гелий с постоянным потоком 1 мл/мин. Температура испарителя 250 °С, источника ионов 170, интерфейса между ГХ и МС детектора 280 °С. Скорость сканирования 1,2 скан/с для области 45–450 а.е.м. Проба 1 мкл.

Компоненты липофильного извлечения идентифицировали путем сравнения времени удерживания и полных масс-спектров с соответствующими данными библиотеки Wiley275 и NIST98. Содержание индивидуальных веществ вычисляли по площади пиков, без использования градуировочных коэффициентов с программированным автоматическим интегрированием. Учитывали компоненты с концентрацией выше 0,005% и вероятностью совпадения масс-спектров более 80%. Повторность проведенных определений – трехкратная.

Таблица 1. Образцы растений рода *Euphrasia* L.

№	Виды	Место сбора	Дата сбора
1	<i>E. officinalis</i>	Пермский край, Кудымкарский р-н, д. Сидорово, суходольный луг	25.08.2008
2	<i>E. tatarica</i>	Пермский край, Пермский р-н, с. Бершеть, суходольный луг	15.08.2008
3	<i>E. stricta</i>	Пермский край, окрестности Краснокамска, низинный луг	24.07.2008
4	<i>E. × reuteri</i>	Пермский край, Добрянский р-н, д. Липово, лесная поляна	28.07.2007
5	<i>E. × murbeckii</i>	Пермский край, Соликамский р-н, д. Хорюшино, опушка леса	28.08.2008
6	<i>E. brevipila</i>	Пермский край, с. Большая Соснова, опушка леса	26.07.2008
7	<i>E. parviflora</i>	Пермский край, Кудымкарский р-н, д. Качанова, суходольный луг	16.08.2008

Обсуждение результатов

В результате проведенного исследования установлено, что виды рода *Euphrasia* имеют близкий качественный состав, при идентификации выявлено 16 компонентов (табл. 2 и 3). Главными являются высшие алканы (октадекан, нонадекан, гексакозан, октакозан, нонакозан, эйкозан), а также фитостерин (γ -ситостерол) и его предшественник (скален). Жирные кислоты и их альдегиды обнаружены в небольшом количестве во всех исследованных видах.

Сравнительный анализ показал, что компонентный состав исследуемых видов рода *Euphrasia* варьирует от трех (*E. tatarica*) до одиннадцати (*E. brevipila*) веществ. Компонентный состав *E. officinalis*, *E. stricta* и *E. parviflora*, представлен девятью веществами. По суммарному содержанию идентифицированных липофильных веществ, исследованные виды располагаются в ряду *E. stricta* > *E. brevipila* > *E. × murbeckii* > *E. parviflora* > *E. officinalis* > *E. × reuteri* > *E. tatarica*.

Постоянными и доминирующими компонентами являются высшие алканы, их число в зависимости от вида варьирует от двух до семи соединений, а количественное содержание колеблется в интервале 20,86–60,62%, в среднем составляет 40,74%. Наибольшее число компонентов и соответственно максимальное содержание найдено в образце *E. brevipila*, минимальное число компонентов и наименьшая сумма высших алканов установлено для *E. tatarica*. Октакозан и нонадекан присутствуют в пяти; гексакозан – в четырех; нонакозан и эйкозан – в трех; гептакозан – в двух из семи исследованных видов. Доминирующим по содержанию является нонакозан, его количество колеблется от 14 до 35%, а минимальное содержание установлено для эйкозана – от 3 до 6,7%.

Таблица 2. Суммарное содержание групп БАВ в гексановых извлечениях из растений рода *Euphrasia* L.

№	Вид	Высшие алканы		Фитостерин и его предшественник		Альдегиды насыщенных жирных кислот		Насыщенные жирные кислоты		Ненасыщенные жирные кислоты		Другие БАВ		Всего	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
1	<i>E. officinalis</i>	3	50,12	2	3,52	2	3,91	1	2,81	–	–	1	4,22	9	64,58
2	<i>E. tatarica</i>	2	20,86	1	1,48	–	–*	–	–	–	–	–	–	3	22,34
3	<i>E. stricta</i>	4	31,75	1	28,16	–	–	2	9,66	1	15,92	1	0,27	9	85,76
4	<i>E. × reuteri</i>	3	40,71	2	5,64	–	–	1	1,59	–	–	–	–	6	47,94
5	<i>E. × murbeckii</i>	3	53,46	1	10,87	2	1,01	–	5,32	1	6,04	–	–	7	76,7
6	<i>E. brevipila</i>	7	60,62	1	21,32	–	–	–	–	–	–	3	2,38	11	84,32
7	<i>E. parviflora</i>	4	45,63	1	15,03	–	–	–	–	4	11,75	–	–	9	72,41

Примечание: I – количество идентифицированных компонентов; II – содержание идентифицированных компонентов в нормировочных процентах от суммы площадей всех зарегистрированных пиков; * здесь и далее содержание соединения относительно суммы всех пиков менее 0,005% или его отсутствие.

Таблица 3. Состав гексановых извлечений растений рода *Euphrasia* L.

Соединение	Количественное содержание, %*							Степень совпадения с библиотечным масс-спектром, %
	<i>E. officinalis</i>	<i>E. tatarica</i>	<i>E. stricta</i>	<i>E. × reuteri</i>	<i>E. × murbeckii</i>	<i>E. brevipila</i>	<i>E. parviflora</i>	
Неофитадиен	–**	–	–	–	–	0,60	–	99
Октадекан	–	–	–	9,45	–	1,11	–	95
Нонадекан	9,82	–	4,01	–	7,78	6,89	7,34	90
Эйкозан	–	6,62	–	–	–	6,71	3,10	98
Гексакозан	6,68	–	20,90	–	38,49	–	27,69	91
Гептакозан	–	–	–	9,79	–	7,08	–	99
Октакозан	33,62	–	6,28	–	7,19	2,85	7,50	83
Нонакозан	–	14,24	–	21,47	–	35,38	–	97
2-Нонакозанон	–	–	0,56	–	–	–	–	94
Сквален	1,96	1,48	–	2,97	–	–	–	92
γ-ситостерол	1,56	–	28,16	2,67	10,87	21,32	15,03	93
Додекановый (лауриновый) альдегид	2,05	–	–	–	0,59	–	–	91
Тетрадекановый (миристиновый) альдегид	1,86	–	–	–	0,42	–	–	95
Гексадекановая (пальмитиновая) кислота	2,81	–	7,75	1,59	5,32	–	10,05	93
Октадекановая (стеариновая) кислота	–	–	1,91	–	–	–	–	91
9,12-октадекадиеновая (линолевая) кислота	–	–	–	–	–	–	1,91	99
9,12,15-октадекатриеновая (линоленовая) кислота	–	–	15,92	–	6,04	–	6,93	93
9-октадеценная (олеиновая) кислота	–	–	–	–	–	–	2,91	86
Тиомочевина	4,22	–	–	–	–	–	–	80
6,10,14-триметил-2-пентадеканон (гексагидрофарнезил-ацетон)	–	–	0,27	–	–	0,48	–	97
1,2-Бензолдикарбоновая (фталевая) кислота	–	–	–	–	–	0,66	–	97
Фитол	–	–	–	–	–	1,24	–	91

Примечания. * содержание компонентов в нормировочных процентах от суммы площадей всех зарегистрированных пиков; ** содержание соединения относительно суммы всех пиков менее 0,005% или его отсутствие.

Во всех видах, за исключением *E. tatarica*, присутствует γ-ситостерол (1,56–28,16%). В образцах *E. officinalis* и *E. × reuteri* данное соединение накапливается в небольшом количестве, 1,56 и 2,67% соответственно. При этом установлено, что данные виды характеризуются присутствием сквалена – природного ациклического тритерпена (C₃₀H₅₀) с 6 двойными связями. Сквален выполняет в организме роль регулятора липидного и стероидного обмена и представляет интерес как вещество с выраженной антиоксидантной активностью [11].

В составе гексанового извлечения из растений рода *Euphrasia* обнаружено пять жирных кислот. Доминирующими являются ненасыщенные – их суммарное содержание, в зависимости от вида, колеблется от 6,07 до 15,92%. Сумма насыщенных жирных кислот у разных видов варьирует от 1,59 до 9,66%. Среди ненасыщенных кислот преобладает линоленовая (среднее значение для рода *Euphrasia* – 9,63%), среди насыщенных – пальмитиновая (среднее значение для рода *Euphrasia* – 5,8%).

Для всех исследуемых образцов, за исключением *E. tatarica* и *E. brevipila*, характерно накопление пальмитиновой кислоты, тогда как стеариновая кислота обнаруживается только у *E. stricta*. Незаменимые (эссенциальные) жирные кислоты обнаружены в *E. stricta* (линоленовая – 15,92%), *E. × murbecki* (линоленовая – 6,04%) и *E. parviflora* (линолевая – 1,93%, линоленовая – 6,93%). Компонентный состав *E. officinalis* и *E. × murbeckii* характеризуется присутствием альдегидов насыщенных жирных кислот – лауриновым и мистриновым.

Специфическими компонентами липофильных извлечений растений рода *Euphrasia* являются тио-мочевина (*E. officinalis*), фитол, фталевая кислота (*E. brevipila*) и гексагидрофарнезиллацетон (*E. brevipila*, *E. stricta*), их содержание не превышает 5%.

Выводы

Липофильные вещества растений рода *Euphrasia* имеют близкий качественный состав, представленный 16 компонентами. Доминирующими являются высшие алканы, а также γ -ситостерол и его предшественник – сквален. Жирные кислоты и их альдегиды обнаружены в небольшом количестве во всех исследованных видах. По суммарному содержанию идентифицированных липофильных веществ исследованные виды располагаются в ряду *E. stricta* > *E. brevipila* > *E. × murbeckii* > *E. parviflora* > *E. officinalis* > *E. × reuteri* > *E. tatarica*.

Список литературы

1. Флора СССР / под ред. Б.К. Шишкина. М.; Л., 1955. Т. 22. 705 с.
2. Поляковская М. Лесные лекарственные растения. Варшава, 1986. 251 с.
3. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения / под ред. Г.П. Яковлева, К.Ф. Блиновой. СПб., 1999. 407 с.
4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства *Caprifoliaceae* – *Plantaginaceae*. Л., 1990. 362 с.
5. Петриченко В.М., Сухинина Т.В. Очанки западного Урала (фармакогностические и биологические аспекты). Пермь, 2006. 145 с.
6. Петриченко В.М., Сухинина Т.В., Бабиян Л.К. Химический состав и антиоксидантная активность биологически активных веществ очанки коротковолосистой // Химико-фармацевтический журнал. 2006. Т. 40, №6. С. 22–26.
7. Goun E.A., Petrichenko V.M., Solodnikov S.U. Anticancer and antithrombin activity of Russian plants // Journal of Ethnopharmacology. 2001. N81. Pp. 337–342.
8. Крегович В.Л. Биохимия растений. М., 1980. 445 с.
9. Deng Yu Cheng, Hua Hui Ming, Li Jun. Lapinskas // Economic Botany. 2001. Vol. 55, N1. Pp. 83–91.
10. Awaisheh S.S., Khalifeh M.S., Al-Ruwaili M.A., Khalil O.M., Al-Ameri O.H., Al-Groom R. Effect of supplementation of probiotics and phytosterols alone or in combination on serum and hepatic lipid profiles and thyroid hormones of hypercholesterolemic rats // Journal of dairy science. 2013. Vol. 96, N1. Pp. 9–15.
11. He H.P., Cai Y., Sun M. Extraction and purification of squalene from amaranthus grain // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002. Vol. 50, N2. Pp. 368–372.

Поступило в редакцию 4 марта 2013 г.

Krotkova O.A., Bombela T.V.* , Petrichenko V.M. COMPARATIVE STUDY OF LIPOPHILIC SUBSTANCES OF PLANTS FROM THE GENUS *EUPHRASIA* L.

Perm State Pharmaceutical Academy, Polevaia st., 2, Perm, 614990 (Russia), e-mail: tatyana.bombela@yandex.ru

Composition of lipophilic substances extracted with hexane in herb of *E. officinalis* L., *E. tatarica* Fisch., *E. stricta* D. Wolff. ex J.F.Lehm., *E. x reuteri* Wettst., *E. x murbeckii* Wettst., *E. brevipila* Burnat et Gremli, *E. parviflora* Schag., growing in Perm Krai has been studied by gas-liquid chromatography (GLC) method. Lipophilic substances have been identified: octadecane, nonadecane, eicosane, hexacosane, heptacosane, octacosane, nonacosane, 2-nonacosanol, neophytadiene, lauric aldehyde, myristic aldehyde, palmitic acid, stearic acid, linoleic acid, linolenic acid, oleic acid, γ -sitosterol, squalene, hexahydrofarnesylacetone, phthalic acid. Dominating components of lipophilic complex are high alkanes, γ -sitosterol and squalene. Fatty acids and its aldehydes were found in small amounts in all species of *Euphrasia*.

Keywords: GC/MS, lipophilic substances, *Euphrasia*.

References

1. *Flora SSSR*. [Flora of the USSR]. Ed. B.K. Shishkin. Moscow; Leningrad, 1955, vol. 22, 705 p. (in Russ.).
2. Poliakovskaia M. *Lesnye lekarstvennye rasteniia*. [Forest herbs]. Warsaw, 1986, 251 p. (in Russ.).
3. *Entsiklopedicheskii slovar' lekarstvennykh rastenii i produktov zhivotnogo proiskhozhdeniia*. [Encyclopedic Dictionary of medicinal plants and products of animal origin]. Ed. G.P. Iakovlev, K.F. Blinova. St. Petersburg, 1999, 407 p. (in Russ.).
4. *Rastitel'nye resursy SSSR: Tsvetkovye rasteniia, ikh khimicheskii sostav, ispol'zovanie. Semeistva Caprifoliaceae – Plantaginaceae*. [Plant Resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition and utilization. Family Caprifoliaceae - Plantaginaceae]. Leningrad, 1990, 362 p. (in Russ.).
5. Petrichenko V.M., Sukhinina T.V. *Ochanki zapadnogo Urala (farmakognosticheskie i biologicheskie aspekty)*. [Eye-bright western Urals (Farmakognostichesky and biological aspects)]. Perm, 2006, 145 p. (in Russ.).
6. Petrichenko V.M., Sukhinina T.V., Babiian L.K. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 2006, vol. 40, no. 6, pp. 22–26. (in Russ.).
7. Goun E.A., Petrichenko V.M., Solodnikov S.U. *Journal of Ethnopharmacology*, 2001, no. 81, pp. 337–342.
8. Kretovich V.L. *Biokhimiia rastenii*. [Biochemistry of plants]. Moscow, 1980, 445 p. (in Russ.).
9. Deng Yu Cheng, Hua Hui Ming, Li Jun. *Economic Botany*, 2001, vol. 55, no. 1, pp. 83–91.
10. Awaisheh S.S., Khalifeh M.S., Al-Ruwaili M.A., Khalil O.M., Al-Ameri O.H., Al-Groom R. *Journal of dairy science*, 2013, vol. 96, no. 1, pp. 9–15.
11. He H.P., Cai Y., Sun M. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, vol. 50, no. 2, pp. 368–372.

Received March 4, 2013

* Corresponding author.

