

*Recommended by Doctor of Pharmacy, professor O.M.Koshoviy*

UDC 582.998.16:581.44/.46:581.135.5

## THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF VOLATILE COMPOUNDS OF THE HERB OF DAHLIA NYMPHAEALES OF KEN'S FLAME CULTIVAR

N.I.Ilyinska, T.M.Gontova, Ya.S.Kryukova

National University of Pharmacy

*Key words: sesquiterpenoids; fatty acids; sesquiterpene ethers/essential oils; Dahlia; herbs*

*Many plants consist of volatile substances, these substances possess a variety of pharmacological effects on the human body, the main ones are analgesic, anti-inflammatory, healing, antimicrobial, soothing, and so on. The aim was to study the qualitative composition and quantitative content of volatile substances of the herb of Dahlia Nymphaeales of Ken's Flame cultivar by chromatography-mass spectrometry. For the study an Agilent Technology 6890 gas chromatograph with the mass spectrometric detector 5973 was used. As the result of the research 46 substances have been determined, among them 43 substances have been identified. It has been found that sesquiterpenoids –  $\alpha$ -kadinol, globulol, vulgarol A, spathulenol, allo-spathulenol were dominant among all groups of compounds identified. The quantitative content of this group was 21.9% of the total amount of compounds. The content of both sesquiterpenoids and fatty acids was the same (17.7% each). Sesquiterpenoids were represented by 10 compounds: aromadendren, allo-aromadendren,  $\beta$ -Elemen,  $\beta$ -farnezen, germacrene D, germacrene B, shyobunon, farnezen,  $\delta$ -kadinen,  $\beta$ -sesquiphellandrene. Shyobunon prevailed among sesquiterpenoids (210.81 mg/g). The fatty acids were represented by 4 compounds: palmitoleic acid, palmitic acid, oleic acid, linoleic acid, among them palmitoleic acid (200.46 mkg/g) prevailed. The content of triterpenoids ( $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -caryophyllene, squalene) was 9.11%. In addition to these compounds the essential oil of Dahlia Nymphaeales herb contained alkanes (8.7%), sesquiterpene ketones (7.9%), diterpene alcohols (5%). Furthermore, the raw material accumulated a trace amount of alkenylphenols (1.6%), ketones (1.4%), sesquiterpene oxides, aldehydes and phenols (1.2% each), monoterpene alcohols (0.32%).*

Volatile substances are widespread in the plant world, and possess a number of pharmacological effects such as anti-inflammatory, antibacterial, sedative, analgesic, etc. Essential oils affect the high blood pressure, expand coronary vessels and improve the human sleep [3, 4, 7, 8, 10-12].

Within the systemic analysis of the chemical composition of Dahlia Nymphaeales of Ken's Flame cultivar a number of studies on the qualitative composition of organic acids, amino acids, macro- and microelements, vitamins was carried out [1, 6, 11]. Previous microscopic analysis of the herb of Dahlia Nymphaeales of Ken's Flame cultivar shows that the epidermis of leaves and flowers have the characteristic glandular structures that accumulate essential oils and other volatile compounds [2]. Therefore, it is advisable to study the composition of volatile compounds contained in the herb of Dahlia Nymphaeales of Ken's Flame cultivar.

The aim was to study the qualitative composition and quantitative content of volatile substances in Dahlia Nymphaeales of Ken's Flame cultivar by chromatography-mass spectrometry.

### Materials and Methods

For the experiment the herb of Dahlia Nymphaeales of Ken's Flame cultivar was used. It was collected in the flowering period (September, 2013) in Kharkiv region and dried to air-dry state. Volatile compounds in the raw material were identified by chromatography-mass spectrometry. The essential oil was obtained by water distil-

lation. For distillation of volatiles 22 ml Agilent vials with open lids and a silicone stopper were used.

Tridecane was used as an internal standard.

According to the procedure 10 ml of water was added to the sample, and distillation of volatile substances with water vapour was conducted for 2 h under reflux. The substances adsorbed after cooling the system were washed by adding 3 ml of especially pure pentane into a dry 10 ml vial. Washouts were concentrated by blowing (100 ml/min) of especially pure nitrogen to the residual volume of the extract (10 mcl) completely collected with the chromatographic syringe. Further concentration of the sample was conducted in the syringe to the volume of 2 mcl.

The composition of volatile substances was studied on an Agilent Technology 6890 gas chromatograph with the mass spectrometric detector 5973. For the analysis the INNOWAX chromatographic capillary column (the column length – 30 m, the internal diameter – 0.25 mm) was used, the carrier gas was helium with the speed of 1.2 ml/min. The introduction of the sample was carried with separation of the flow 1/50. The thermostat temperature was 50°C to 220°C at the rate of 4°/min. The temperature of the detector and the evaporator was 250°C. The sample was injected in a splitless mode (without the flow separation) to the chromatographic column (2 mcl), the rate of the sample introduction was 1.2 ml/min for 0.2 min. To identify the components the libraries of

Table

The components of volatile compounds obtained from the herb of *Dahlia Nymphaeales* of Ken's Flame cultivar

Compound	Retention time, min	Content, mkg/g
nonanal	9.69	1.93
linalool	9.77	4.04
terpineol	12.50	2.66
decanal	12.99	4.82
3-methoxyacetophenone	16.21	6.41
methyl-trans-eugenol	17.63	3.81
$\beta$ -elemen	19.28	4.91
$\beta$ -caryophyllene	20.05	19.82
cis-methyl eugenol	20.62	31.20
allo-aromadendrene	20.94	1.58
$\alpha$ -caryophyllene	21.04	5.43
$\beta$ -farnesene	21.30	5.37
germacrene D	21.86	40.84
germacrene B	22.32	15.21
shyobunon	22.70	210.81
farnesene	22.81	5.98
$\delta$ -cadinene	23.13	9.12
$\beta$ -sesquiphellandrene	23.21	5.13
caryophyllene oxide	23.85	25.43
allo-spathulenol	24.53	22.82
spathulenol	24.70	279.26
globulol	24.82	50.87
aromadendren	26.10	75.35
$\alpha$ -cadinol	26.76	94.10
azulenon	27.20	106.47
1,4-cis-1,7-trans-akorenon	27.34	59.49
2-methoxy-5-vinylphenol	27.88	33.06
tetradecanal	27.98	17.08
not identified	28.13	20.87
not identified	28.95	47.05
vulgarol A	29.04	14.79
farnesyl acetone	31.21	23.52
palmitoleic acid	31.76	47.13
palmitic acid	32.17	200.46
octadecanal	33.80	2.49
phytol	34.11	106.68
oleic acid	34.30	101.05
not identified	34.42	27.55
linoleic acid	34.46	24.44
tricosane	36.21	92.03
tetracosane	36.94	11.89
pentacosane	37.24	15.37
hexacosane	39.17	5.75
heptacosane	40.10	24.69
squalene	41.09	167.07
nonacosane	41.83	33.97

NIST05 and WILEY 2007 mass spectra with the total number of more than 470000 spectra were used along with AMDIS and NIST identification programmes [5, 9].

### Results and Discussion

According to the data of the chromatography-mass spectrometry study 46 compounds have been found in the herb of *Dahlia Nymphaeales* of Ken's Flame cultivar. Among them 43 substances have been identified (Table).

Among the groups of compounds identified by the quantitative content sesquiterpenoids prevailed (21.9% of the total volatile compounds); they were represented by  $\alpha$ -kadinol, vulgarol A globulol, spathulenol, allo-spathulenol with spathulenol being a dominant compound among sesquiterpenoids (279.26 mkg/g). The content of both sesquiterpenoids and fatty acids was the same (17.7% each). Sesquiterpenoids were represented by 10 compounds: aromadendren, allo-aromadendren,  $\beta$ -elemen,  $\beta$ -farnesene, germacrene D, germacrene B, shiobunon, farnesene,  $\delta$ -cadinene,  $\beta$ -sesquiphellandrene with shiobunon being a dominant compound among sesquiterpenoids (210.81 mkg/g). Among the fatty acids (palmitoleic, palmitic, oleic, linolenic) the largest amount was registered for palmitoleic acid (200.46 mg/g).

The compounds of the triterpene group were represented by  $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -caryophyllene, squalene. The total amount of these substances was 9.11%. Among triterpenes squalene prevailed (167.07%). In addition to these compounds the essential oil of *Dahlia Nymphaeales* herb contained alkanes (8.7% – tricosane, tetracosane, pentacosane, heptacosane, hexacosane, nonacosane), sesquiterpene ketones (7.9% – azulenon, 1,4-cis-1,7-trans-akorenon), diterpene alcohols (5% – phytol), alkylphenols (1.6% – 2-methoxy-5-vinylphenol). Ketones – farnesylacetone, 3-methoxyacetophenone amounted to 1.4%.

The amount of phenols (methyl-trans-eugenol, cis-methyleugenol), aldehydes (nonanal, decanal, tetradecanal, octadecanal) and sesquiterpene oxides (caryophyllene oxide) in *Dahlia* herb was equal – 1.2% each. The content of monoterpene alcohols (linalool, terpineol) in *Dahlia* herb was in trace amount (0.32%).

### CONCLUSIONS

1. For the first time chromatography-mass spectrometry has been applied to study the qualitative composition and quantitative content of volatile compounds in the herb of *Dahlia Nymphaeales* of Ken's Flame cultivar. Among them 43 substances have been identified, and their quantitative content has been determined.

2. The dominant groups of compounds were sesquiterpene alcohols (21.9% of the total amount of volatile compounds), with spathulenol being the largest in quantity (279.26 mkg/g); fatty acids (17.7%), with palmitoleic acid exceeding the rest (200.46 mkg/g) and sesquiterpenoids (17.7%), with shyobunon being the largest in quantity (210.81 mkg/g).

## REFERENCES

1. Гонтова Т.М., Кічимасова Я.С., Ільїнська Н.І. // *Зб. наук. праць співробіт. НМАПО ім. П.Л.Шурика.* – 2014. – Вип. 23 (4). – С. 245-249.
2. Плахотнича Є.А., Ільїнська Н.І., Кічимасова Я.С. // *Досягнення сучасної медицини: матер. 75-ї загальноуніверситетської студ. наук. конф., м. Львів 24-25 квітня 2014 р.* – Л., 2014. – С. 222-223.
3. Astani A., Reichling J., Schnitzler P. // *Phytotherapy Res.* – 2010. – Vol. 24 (5). – P. 673-679.
4. Bassole I., Juliani H.R. // *Molecules.* – 2012. – Vol. 17 (4). – P. 3989-4006.
5. Bicchi C., Brunelli C., Cordero C. // *J. Chromatogr. A.* – 2004. – Vol. 1024, №1-2. – P. 195-207.
6. Ilyinska N., Gontova T., Kichymasova Y. // *Actual Questions of Development of New Drugs: XX International scientific and practical conference of young scientists and student, April 22-23, 2014, Kharkiv.* – P. 32.
7. Khan M.A. Chervinskaya A.V., Sotnikova E.N. // *Problems of Balneol., Physiotherapy and Exercise Therapy.* – 2005. – Vol. 2. – P. 9-12.
8. Kovaleva A.M., Goncharov N.F., Komissarenko A.N. et al. // *Chemistry of Natural Compounds.* – 2009. – Vol. 45, №4. – P. 592-593.
9. Roman M., Dobrowolski J.C., Baranska M. et al. // *J. of Natural Products.* – 2011. – Vol. 74 (8). – P. 1757-1763.
10. Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M. et al. // *Food Chemistry.* – 2005. – Vol. 91 (4). – P. 621-632.
11. Sokolova O., Gontova T., Ilyinska N., Matkowski A. // *Trends in natural products research: young scientists meeting, June 23-25, 2014, Olomouc.* – P. 58-59.
12. Weitzel C. // *Phytochemistry.* – 2011. – Vol. 72. – P. 572-578.

**ЯКІСНИЙ СКЛАД ТА КІЛЬКІСНИЙ ВМІСТ ЛЕТКИХ СПОЛУК ТРАВИ ЖОРЖИНИ НІМФЕЙНОЇ СОРТУ KEN'S FLAME****Н.І.Ільїнська, Т.М.Гонтова, Я.С.Крюкова**

**Ключові слова:** сесквітерпенові спирти; сесквітерпеноїди; жирні кислоти; жоржина; трава

Леткі речовини у значній мірі входять до складу багатьох рослин і чинять різноманітні фармакологічні ефекти на організм людини, основними з яких є знеболювальна, протизапальна, ранозагоювальна, антимікробна, заспокійлива дія тощо. Метою роботи стало вивчення якісного складу та кількісного вмісту летких речовин трави жоржини німфейної сорту Ken's Flame методом хромато-мас-спектрометрії. Для дослідження використовували газовий хроматограф Agilent Technology 6890 із мас-спектрометричним детектором 5973. У результаті проведених досліджень виявлено 46 речовин, з яких ідентифіковано 43. Встановлено, що серед ідентифікованих груп сполук домінували сесквітерпенові спирти:  $\alpha$ -кадиол, глобулол, вульгарол А, спатуленол, ало-спатуленол. Кількісний вміст цієї групи речовин становив 21,9% від загальної кількості сполук. Вміст сесквітерпеноїдів і жирних кислот був однаковим і складав по 17,7%. Сесквітерпеноїди представлені 10 сполуками: аромадендреном, ало-аромадендреном,  $\beta$ -елеменом,  $\beta$ -фарнезеном, гермакреном Д, гермакреном В, шиобуноном, фарнезеном,  $\delta$ -кадиненом,  $\beta$ -сесквіфіландреном, серед яких переважав шиобунон (210,81 мкг/г). Жирні кислоти представлені 4 сполуками: пальмітолеїновою, пальмітиновою, олеїновою, ліноленовою кислотами, з яких у більшій кількості містилася пальмітинова кислота (200,46 мкг/г). Вміст тритерпеноїдів ( $\beta$ -каріофілен,  $\alpha$ -каріофілен, сквален) склав 9,11%. Окрім перелічених вище груп сполук у траві жоржини німфейної встановлено наявність алканів (8,7%), сесквітерпенових кетонів (7,9%), дитерпенових спиртів (5%). Крім того, у незначній кількості у досліджуваній сировині накопичувались алкенилфеноли (1,6%), кетони (1,4%), сесквітерпенові оксиди, феноли та альдегіди (по 1,2%), монотерпенові спирти (0,32%).

**КАЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ ЛЕТУЧИХ СОЕДИНЕНИЙ ТРАВЫ ГЕОРГИНЫ НИМФЕЙНОЙ СОРТА KEN'S FLAME****Н.И.Ильинская, Т.Н.Гонтовая, Я.С.Крюкова**

**Ключевые слова:** сесквитерпеновые спирты; сесквитерпеноиды; жирные кислоты; георгина; трава

Летучие вещества в значительной степени входят в состав многих растений и обладают различными фармакологическими эффектами на организм человека, основными из которых являются обезболивающее, противовоспалительное, ранозаживляющее, антимикробное, успокаивающее действие и т. д. Целью работы стало изучение качественного состава и количественного содержания летучих веществ травы георгины нимфейной сорта Ken's Flame методом хромато-масс-спектрометрии. Для исследования использовали газовый хроматограф Agilent Technology 6890 с масс-спектрометрическим детектором 5973. В результате проведенных исследований обнаружено 46 веществ, из которых идентифицировано 43. Установлено, что среди идентифицированных групп соединений доминировали сесквитерпеновые спирты:  $\alpha$ -кадиол, глобулол, вульгарол А, спатуленол, алло-спатуленол. Количес-

венное содержание этой группы веществ составило 21,9% от общего количества соединений. Содержание сесквитерпеноидов и жирных кислот было одинаковым и составило по 17,7%. Сесквитерпеноиды представлены 10 соединениями: аромадендреном, алло-аромандреном,  $\beta$ -элеменом,  $\beta$ -фарнезеном, гермакреном Д, гермакреном В, шиобуноном, фарнезеном,  $\delta$ -кадиненом,  $\beta$ -сесквириландреном, среди которых преобладал шиобунон (210,81 мкг/г). Жирные кислоты представлены 4 соединениями: пальмитолеиновой, пальмитиновой, олеиновой, линоленовой кислотами, из которых в большем количестве содержалась пальмитиновая кислота (200,46 мкг/г). Содержание тритерпеноидов ( $\beta$ -кариофиллен,  $\alpha$ -кариофиллен, сквален) составило 9,11%. Кроме перечисленных выше групп соединений в траве георгины нимфейной установлено наличие алканов (8,7%), сесквитерпеновых кетонов (7,9%), дитерпеновых спиртов (5%). Кроме того, в незначительном количестве в исследуемом сырье накапливались алкенилфенолы (1,6%), кетоны (1,4%), сесквитерпеновые оксиды, фенолы и альдегиды (по 1,2%), монотерпеновые спирты (0,32%).