

Рекомендована д-м біол. наук, проф. Л.С. Фірою

УДК 615.322:582.739:547.979.7.8:577.115.3

ХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ЛІПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ З ТРАВИ *LENS CULINARIS*.

© С.В. Романова, С.В. Ковальов

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: представлені результати дослідження ліпофільної фракції з трави сочевиці харчової (*Lens culinaris*). Визначено кількісний вміст ліпофільної фракції в рослинній сировині, який склав 3,9 %. За допомогою хроматографічних методів та якісних реакцій встановлено наявність каротиноїдів, хлорофілів. Кількісний вміст каротиноїдів склав 1065,83 мг%, хлорофілів – 1625,75 мг%. Досліджено якісний склад та кількісний вміст жирних кислот.

Ключові слова: ліпофільна фракція, сочевиця харчова, каротиноїди, хлорофіли.

Вступ. Сочевиця харчова (*Lens culinaris* Moench.) належить до родини бобових (*Fabaceae*). Це однорічна трав'яниста рослина, яка має велике народногосподарське значення. Вирощують *Lens culinaris* переважно заради насіння, яке містить велику кількість білка [9].

В останній час приділяється більше уваги дослідженню ліпофільних екстрактів, отриманих з лікарських рослин, і розробці на їх основі лікарських препаратів різної біологічної дії. Це обумовлено, по-перше, комплексним використанням лікарської сировини, по-друге, тим, що до складу ліпофільних екстрактів входять найважливіші класи біологічно активних сполук, такі, як ліпіди, токоферолі, каротиноїди, хлорофіли, стерини, більшість з яких є біологічними ефекторами, регуляторами і медіаторами, які беруть участь практично у всіх фізіологічних процесах [1].

Раніше нами було проведено фітохімічне дослідження трави сочевиці, встановлено кількісний вміст фенольних сполук (флавоноїдів, гідрокси-коричних кислот, дубильних речовин) [5].

Ліпофільні речовини трави сочевиці практично не вивчені. З метою комплексної переробки було доцільним отримати та вивчити ліпофільну фракцію з досліджуваної сировини. Заготівлю трави проводили в Харківській області у 2007 році.

Методи дослідження. Для одержання ліпофільної фракції 30 г подрібненої трави сочевиці харчової вичерпно екстрагували хлороформом в апараті Сокслета. Отриманий хлороформний екстракт упарювали до повного видалення екстрагенту та зважували. Після цього визначали відсотковий вміст суми ліпофільних речовин у рослинній сировині гравіметричним методом.

Органолептичні та фізичні показники визначали за загальновідомими методиками [3, 6, 11].

Визначення каротиноїдів та хлорофілів проводили методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках «Silufol» у ситемах розчин-

ників гексан-ацетон (6:4) – 1 напрямом, гексан-ацетон (6:2) – 2 напрямом.

Якісне вивчення каротиноїдів на хроматограмі проводили за характерним жовтим або жовто-гарячим забарвленням, а в УФ-світлі – за коричневою флуоресценцією плям. Для наявності каротиноїдів хроматограму обробляли розчином *n*-диметиламінобензальдегіду у суміші етанолу та хлористоводневої кислоти. Після обробки хроматограму висушували при 80-90 °C протягом 5-7 хв. Плями, які відповідали каротиноїдам, забарвлювались в рожево-фіолетовий колір [8,10].

Локалізацію хлорофілів на хроматограмі визначили за характерним забарвленням – від темно-зеленого до зеленувато-темного у видимому світлі та яскраво-червоною флуоресценцією у фільтрованому УФ-світлі ($\lambda=360\text{nm}$).

Наявність токоферолів виявляли за допомогою якісної реакції. Для цього 0,05 г ліпофільної фракції розчиняли в 1 мл хлороформу у пробірці з притертою пробкою, додавали 2 мл 0,2 % розчину кислоти фосфорномолібденової в льодяній оцтовій кислоті. Спостерігали інтенсивне смарагдово-зелене забарвлення, яке підтверджувало присутність токоферолів у досліджуваній ліпофільній фракції [2].

Кількісне визначення каротиноїдів та хлорофілів проводили спектрофотометричним методом. Для цього 0,05 г ліпофільного екстракту вміщували у мірну колбу на 50 мл, розчиняли його в хлороформі і доводили хлороформом до мітки.

Визначення β -каротину та хлорофілу А проводили в одному розчині, бо максимуми їх поглинання лежать у різних ділянках. Оптичну густину отриманого розчину визначали на спектрофотометрі СФ-46, при довжині хвилі 670 нм (хлорофіли) та при 453 нм (каротиноїди) в кюветі з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був хлороформ.

Вміст суми каротиноїдів (X , мг %) у перерахунку на β -каротин та хлорофілів (X , мг %) у перерахунку на хлорофіл А розраховали за формулою:

$$X = \frac{A * 10 * V * 100 * 100}{E_{1cm}^{1\%} * m * (100 - w)}$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;
10 – вміст хлорофілу А чи β -каротину в 1 мл 1% розчину, мг;

V – об'єм мірної колби, мл;

100 – коефіцієнт перерахунку на 100 г досліджуваної сировини;

$E_{1cm}^{1\%}$ – екстинція хлорофілу А в хлороформі при довжині хвилі 670 нм, яка дорівнює 944,5, чи екстинція β -каротину в хлороформі при 453 нм, яка дорівнює 2592;

m – маса наважки ліпофільного екстракту, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Якісне та кількісне визначення жирних кислот проводили методом газорідної хроматографії на хроматографі "Shimadzu GC-14 В" при таких умовах: газ-носіє – гелій особливої чистоти; потік газу-носія – 1 мл/хв; температура: інжектора – 240 °С; детектора – 250 °С, колонки – 160 °С; розміри колонки – 60Ч0,32 мм, маса твердофазного носія – "HP-23" із зернінням – 0,25 мкм, розділення 1:170, розчинник – циклогексан. Для ідентифікації жирних кислот проводили порівняння показників часу утримання піків метилових ефірів і стандартної суміші. Вміст жирних кислот розраховували у відсотках від їх суми.

Для дослідження флуоресціюючих компонентів були отримані тримірні спектри флуоресценції методом тримірної скануючої спектродіагностики в ультрафіолетовому та видимому діапазонах спектра за допомогою спектродіагностичного апарату "Hitachi F4010". Вимірювання спектра проводили у діапазонах збудження і випромінювання від 350 до 750 нм, кроком 5 нм. Подальшу обробку записів з побудовою тривимірних графіків використовували за допомогою програмного пакета

А

Spectra Data Lad, розробленого в НДІ хімії ХНУ ім. Каразіна [4].

Результати й обговорення. Одержана ліпофільна фракція з трави сочевиці харчової, вихід якої склав 3,9 %.

З метою стандартизації отриманої ліпофільної фракції нами були вивчені органолептичні та деякі фізико-хімічні показники [3, 6]. Отриманий ліпофільний екстракт являє собою густу однорідну масу без зайвих включень, темно-зеленого кольору зі специфічним ароматним запахом, яка не розчиняється в воді та спирті і добре розчиняється в хлороформі.

У результаті проведеного хроматографічного аналізу ліпофільної фракції встановлена наявність каротиноїдів, хлорофілів. Схема ТШХ екстракту наведена на рисунку 1. У ліпофільній фракції знайдено 14 речовин. Речовини 11-13 були віднесені нами до каротиноїдів, речовини 1, 2, 4, 5, 8, 9, 14 – до хлорофілів.

Після отримання спектрів поглинання хлороформних розчинів досліджуваних фракцій, що наведені на рисунку 2, було розраховано

Рис. 1. Схема тонкошарової хроматограми ліпофільного екстракту з трави сочевиці харчової. I напрямом – гексан-ацетон(6:4); II напрямом – гексан-ацетон (6:2).

Рис. 2. Спектр поглинання хлороформного розчину ліпофільного екстракту з трави сочевиці харчової.

λ , нм

кількісний вміст суми хлорофілів та каротиноїдів – 1625,75 мг%, 1065,83 мг% відповідно.

Газорідинною хроматографією (схема хроматограм наведена на рисунку 3) у ліпофільному екстракті виявлено 12 жирних кислот, з яких 6 насичених та 6 ненасичених. Їх якісний склад та кількісний вміст наведений у таблиці 1. З насичених кислот переважають лінолева (30,4%) та ліноленова (16,2%), які є незамінними та входять до складу комплексу

вітаміну F. Серед насичених жирних кислот найбільший відсоток складає пальмітинова кислота (21,2%).

Аналіз тримірних спектрів флуоресценції ліпофільного комплексу з трави сочевиці, а також проєкцій цих спектрів на площину збудження/випромінювання, представлених в логарифмічних шкалах інтенсивності, дозволяє зробити додаткові висновки про якісний вміст досліджуваного об'єкта (рис. 4, 5).

Рис. 3. Схема газорідинної хроматографії ліпофільного екстракту з трави сочевиці харчової.

Таблиця 1. Якісний склад і кількісний вміст жирних кислот у ліпофільній фракції з трави сочевиці харчової

Назва кислоти	Загальна формула	Вміст,% від суми
Пальмітинова	C16:0	21,23
Пальмітолеїнова	C16:1n9	1,87
Стеаринова	C18:0	5,03
Олеїнова	C18:1n9	7,57
Вакценова	C18:1n11	1,52
Лінолева	C18:2n9,12	30,42
Ліноленова	C18:3n9,12,15	16,2
Арахінова	C20:0	3,92
Бегенова	C22:0	1,79
Докозадієнова	C22:2	3,23
Лігноцерінова	C24:0	1,87
Церотова	C26:0	5,31
Сума насичених кислот		39,17
Сума ненасичених кислот		60,83

Рис. 4. Тримірний спектр флуоресценції ліпофільного екстракту трави сочевиці харчової.

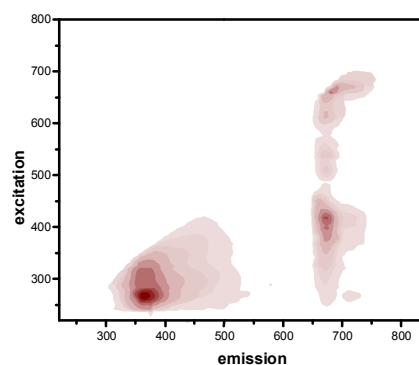
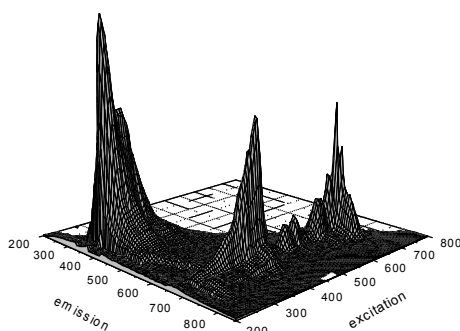


Рис. 5. Проєкція тримірного спектра флуоресценції на площину $(\lambda_{exc}, \lambda_{em})$.

Піки в ділянках збудження λ_{exc} 270-280, 290-330 нм та випромінення λ_{em} 350-400 нм характерні для випромінення простих фенольних сполук, також деяких ліпідів та фосфоліпідів. Піки в ділянках збудження 250-300, 330-400 нм та випромінення 450-500 нм свідчать про наявність агліконів флавонів і флавонолів, піки в ділянках збудження 280-450, 480-530, 600-700 нм та випромінення 650-750 нм – це ділянка флуоресценції хлорофілу, де неоднаковий характер розширення піків при збудженні дає змогу говорити про наявність хлорофілу А і Б.

Висновки. 1. Отримана ліпофільна фракція з трави сочевиці харчової методом вичерпної екстракції хлороформом в апараті Соклета. Кількісний вміст ліпофільної фракції склав 3,9%.

Література

1. Ковальов В.М., Бородіна Н.В. Вивчення ліпофільних речовин *Populus tremula* // Вісник фармації. – 2003 – № 4 (36). – С. 55-59.
2. Демешко О.В., Журавель І.О., Комісаренко А.М. Хімічне вивчення ліпофільної фракції з листя акації білої // Вісник фармації. – 2004. – № 2(38). – С. 23-26.
3. Державна фармакопея України / МОЗ України – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001 – 532с.
4. Паранич В.А., Дорошенко А.О., Рошаль О.Д. та ін. Визначення видового походження рослинних олій // Фармацевтичний журнал. – 2000. – № 5. – С. 86-90.
5. Романова С.В., Ковальов В.М. Фітохімічне дослідження *Lens culinaris*. // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: Матер. всеукр. наук.-прак. конф. студ. та мол. вчен. (16-17 квітня 2008р.). – Х.: Вид-во НФаУ, 2008. – С.142.

Встановлено наявність жирних кислот, хлорофілів, каротиноїдів.

2. Визначено кількісний вміст каротиноїдів і хлорофілів у ліпофільному екстракті – 1065,83 мг%, 1625,75 мг% відповідно.

3. Методом газорідинної хроматографії встановлено якісний та кількісний склад жирних кислот у ліпофільній фракції з трави сочевиці харчової. Визначено 12 жирних кислот (6 насичених та 6 ненасичених). У кількісному відношенні переважають ліолева (30,42%), пальмітинова (21,23%) та ліоленова (16,2%) кислоти.

4. Отримані тримірні спектри флуоресценції дозволили виявити присутність простих фенолів, агліконів флавонів і флавонолів, хлорофілу А і Б.

6. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336с.

7. Котова Э.Э., Зинченко А.А., Куликов А.Ю. и др. К вопросу о методах стандартизации рыбьего жира. Определение жирного кислотного состава и количественного содержания витамина D₃ в рыбьем жире // Фармаком. – 2002. – № 2. – С. 83-91.

8. Кудрицкая С.Е. Каротиноиды плодов и ягод. – К.:Вища школа, 1990. – 221с.

9. Леонтьев В.М. Чечевица. – Ленинград: Колос, 1966. – С. 175.

10. Bunnell R.H. In: The Vitamins, 2-nd ed. – N.Y., L., 1967. – 200 p.

11. European Pharmacopeia, 4th Ed. – Strasbourg, 2001. – 2416 p.

ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОФИЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ИЗ ТРАВЫ LENS CULINARIS.

С.В. Романова, С.В. Ковалев

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Резюме: представлены результаты исследования липофильной фракции из травы чечевицы пищевой (*Lens culinaris*). Определено количественное содержание липофильной фракции в растительном сырье, которое составило 3,9 %. С помощью хроматографических методов и качественных реакций установлено наличие каротиноидов и хлорофиллов. Количественное содержание каротиноидов составило 1065,83 мг%, хлорофиллов – 1625,75 мг%. Исследованы качественный состав и количественное содержание жирных кислот.

Ключевые слова: липофильная фракция, чечевица пищевая, каротиноиды, хлорофиллы.

CHEMICAL RESEARCH OF LIPOPHILIC FRACTION FROM LENTIL (LENS CULINARIS) HERB**S.V. Romanova, S.V. Kovalyov***National Pharmaceutical University, Kharkiv*

Summary: the results of lipophilic fraction from lentil herb are represented. The quantitative content of lipophilic fraction in herbal raw material is 3,9 %. By means of chromatographic method and qualitative reactions was revealed the availability of carotenoids and chlorophylls. Quantitative content of carotenoids is 1065,83mg%, chlorophylls – 1625,75mg%. Qualitative and quantitative content of fatty acids was investigated.

Key words: lipophilic fraction, lentil, carotenoids, chlorophylls.

Рекомендована д-м фармац. наук, проф. В.С. Кисличенко

УДК 633.878.31:581.19:547.98

ФІТОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ КОРИ ТА ЛИСТКІВ SALIX CAPREA L.**©М.І. Шанайда, М.М. Палагнюк, П.Г. Лихацький***Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського*

Резюме: на основі проведеного ВЕРХ-аналізу фенольних сполук кори та листків *Salix caprea* L. встановлено наявність ряду глікозидів саліцилової кислоти та флавоноїдів. Методом перманганатометрії визначено вміст дубильних речовин у корі та листках рослини.

Ключові слова: *Salix caprea*, глікозиди саліцилової кислоти, флавоноїди, дубильні речовини.

Вступ. Значне зростання на фармацевтичному ринку кількості ліків проти запальної, антисептичної дії синтетичного походження, побічні ефекти від вживання яких загальновідомі, викликає необхідність у створенні нових лікарських засобів із вказаними фармакологічними властивостями на рослинній основі. Значний інтерес в цьому напрямі викликають представники роду Верба (*Salix* L.), які широко розповсюджені в Україні як в дикорослому стані, так і в культурі [3, 9].

Верба козяча (*Salix caprea* L.) – неофіційна лікарська рослина родини Вербові, сировинні запаси якої у природних місцях зростання в Україні досить значні і не потребують природоохоронних заходів [9]. В офіційній медицині рослина не використовується, як і більшість видів роду *Salix*, які поширені в Україні [3, 5, 8]. Разом з тим, у зарубіжних країнах фітохімічне дослідження різних видів роду Верба та вивчення їх лікувальних властивостей в останні десятиліття є досить актуальним [11-13]. Вважаємо, що *S. caprea* заслуговує комплексного фармакогностичного дослідження з метою вивчення можливості подальшого використання у фармації.

У зв'язку з тим, що основними біологічно активними речовинами видів роду *Salix* є фенольні сполуки, метою нашої роботи було вивчення вмісту та компонентного складу простих фенолів, флавоноїдів та дубильних речовин у корі та листках *S. caprea*. Вибір у якості сировини для досліджень кори та листків продиктований важливістю комплексного використання лікарської рослинної сировини [4, 12].

Методи дослідження. Кору *S. caprea* заготовляли навесні (в період сокоруху) з 2-4 річних гілок. Сушіння проводили в приміщенні, яке добре провітрюється, при температурі близько 60 °С. Листки заготовляли у червні-вересні та сушили при кімнатній температурі.

Аналіз вмісту простих фенолів і флавоноїдів проводили методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на хроматографі Agilent Technologies 1100 при довжинах хвиль 261, 280, 313, 350 нм згідно з [2, 8]. Ідентифікацію проводили шляхом порівняння часів утримування аналізованої речовини у випробуваній пробі й розчині порівняння. Для досліджень використовували метанольні екстракти сировини *S. caprea*.