

**AMINO-ACID COMPOSITION OF ARNICA MONTANA AND ARNICA FOLIOSA****S.M. Marchyshyn, O.L. Demydyak***Ternopil State Medical University Named after I. Ya. Horbachevsky*

**Summary:** amino acid composition of *Arnica montana* and *Arnica foliosa* grass was studied. It was set the presence of 15 amino acids, the exposure of which strengthens the pharmacological value of explored medicinal plant sources.

**Key words:** amino acids, *Arnica montana*, *Arnica foliosa*.

*Рекомендована д-м фармац. наук, проф. С.М. Марчишин*

УДК 615.322:547.979.7/8:582.623.2

**ЛІПОФІЛЬНІ СПОЛУКИ POPULUS TREMULA L.****© В.М. Ковальов, Н.В. Бородіна, А.М. Рудник, В.В. Альхусейн***Національний фармацевтичний університет, Харків*

**Резюме:** в роботі представлені результати вивчення ліпідного складу кори *Populus tremula* L. Визначено кількісний вміст ліпофільних фракцій в рослинній сировині. Виявлено наявність хлорофілів, каротиноїдів, фенольних сполук за допомогою якісних реакцій і хроматографічних методів. Встановлено кількісний вміст хлорофілів, флавоноїдів і суми каротиноїдів в перерахунку на  $\beta$ -каротин в ліпофільних фракціях кори *Populus tremula* L. Визначено жирнокислотний склад кори осики.

**Ключові слова:** тополя тремтяча, фенольні сполуки, хлорофіли, каротиноїди, ліпіди.

**Вступ.** *Populus tremula* L. (тополя тремтяча або осика) дерево з родини вербових – Salicaceae, поширене на території України.

За літературними даними та власними фітохімічними дослідженнями рослин роду тополя, було встановлено, що вони мають різноманітний хімічний склад і містять різні класи природних сполук – фенольні сполуки (фенолоспирти, гідроксикоричні та гідроксибензойні кислоти, кумарини, флавоноїди, дубильні речовини), вуглеводи, амінокислоти, ліпофільні сполуки [2, 4, 11].

Ліпофільні фракції з кори тополі тремтячої містять жиророзчинні вітаміни, фенольні сполуки, жирні кислоти, хлорофіли, каротиноїди, стерини, які виявляють різні види біологічної активності [1, 6, 7, 10]. Тому для комплексного дослідження, а надалі для використання лікарської сировини, великий інтерес представляє дослідження ліпофільних екстрактів і розробці на їх основі лікарських препаратів.

Раніше нами був досліджений якісний склад та кількісний вміст основних груп біологічно активних речовин у бруньках, листі та корі тополі

тремтячої та тополі білої [2-5,9]. У даній статті наведена інформація про подальше вивчення хімічного складу ліпофільних екстрактів досліджуваної рослинної сировини.

**Методи дослідження.** Ліпофільні екстракти отримували з кори тополі тремтячої. Для цього використовували сировину, заготовлену на початку сокобору в Харківській області у 2007 році. Для виділення суми ліпофільних речовин брали по 20,0 г подрібненої сировини та вичерпно екстрагували при однакових умовах хлороформом та петролейним ефіром в апараті Сокслета. Також була отримана ліпофільна фракція з кори осики в екстракторі з застосуванням хладону-12, тиск насиченої пари не перевищує 1 Мпа при температурі 20 °С. Отримані ліпофільні екстракти концентрували до повного видалення екстрагенту і використовували для подальшого дослідження.

Органолептичні та фізичні показники визначали за загальновідомими методиками [8].

Якісний склад ліпофільних фракцій вивчали методами тонкошарової хроматографії (ТШХ) в

одномірному та двомірному напрямках в системі розчинників гексан-ацетон (6:4), гексан-ацетон (6:8) та хлороформ на пластинках "Silufol UV-366", "Silufol UV-254", "Сорбфіл" (тип ПТСХ-П-А, ПТСХ-АФ-В, ПТСХ-АФ-А-УФ, ПТСХ-П-В-УФ) та тривимірної скануючої спектрофлуориметрії в ультрафіолетовому та видимому діапазонах спектра за допомогою спектрофлуориметра Hitachi F4010 при сприятливих канд. хім. наук О.Д. Рошала. Вимірювання спектрів проводили у діапазонах випромінювання та збудження від 250 до 750 нм. Подальшу обробку записів з побудовою тривимірних графіків виконували за допомогою програмного пакета Spectra Data Lab, розробленого в НДІ хімії Харківського Національного університету ім. В.Н. Каразіна [5, 6].

Значну частину природних ліпофільних комплексів складають жирні кислоти. Тому було проведено якісне та кількісне визначення жирних кислот методом газорідної хроматографії на хроматографі "Shimadzu GC-14B" за таких умов: газ-носіє – гелій особливої чистоти; потік газу-носія – 1мл/хв; температура, °С: – інжектору – 240; – детектору – 250; – колонки – 160; розміри колонки – 60 мм × 0,32 мм. Як твердофазний носій використовували HP-23 0,25 мкм, розділення 1:170, а як 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. Результати наведені у таблиці 1.

Проведено кількісну оцінку вмісту в досліджуваних ліпофільних екстрактах (в точних наважках 0,05 г) суми каротиноїдів (в перерахунку на β-каротин при довжині хвилі 453 нм), хлорофілів (в перерахунку на хлорофіл А при довжині хвилі 670 нм) спектрофотометричним методом на спектрофотометрі СФ-46 та флаваноїдів (в перерахунку на кверцетин) за допомогою спектрофлуориметра Hitachi F4010 [2,5].

Також нами було проведено дослідження антимікробної дії ліпофільних фракцій кори тополі тремтячої. Для цього використовувався метод дифузії в агар, з використанням наступних тест – мікроорганізмів: *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633, *P. aeruginosa* ATCC 25853, *C. albicans* ATCC 885-653 [2,11].

**Результати й обговорення.** Одержані ліпофільні фракції з кори *Populus tremula* L, вихід яких склав: хлороформом – 10,3%, петролейним ефіром – 8,1%, хладоном – 6,7%. Таким чином, кількісний вміст ліпофільних речовин в корі тополі тремтячої, залежно від обраного екстрагенту, відрізняється, але залишається на достатньо високому рівні.

З метою стандартизації отриманих ліпофільних екстрактів були визначені їх органолептичні

та фізико-хімічні властивості. Одержані ліпофільні фракції мають вигляд хлороформна – густої смолоподібної маси темно-зеленого кольору, петролейна – мазеподібної маси темно-зеленого, хладонова – густої рідини зеленого кольору, приємного запаху. Ліпофільні фракції нерозчинні у воді, розчинні у хлороформі, спирті, гексані, рослинних оліях.

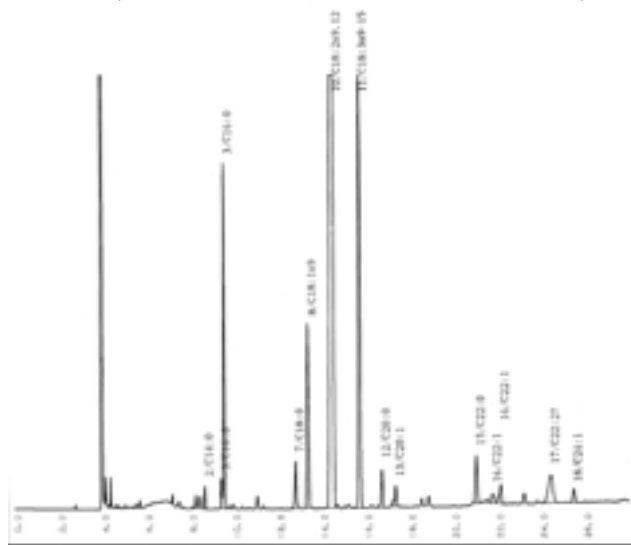
В результаті проведеного хроматографічного аналізу у ліпофільних фракціях кори осики встановлено наявність каротиноїдів, хлорофілів, кумаринів, агліконів флаваноїдів. Хімічний склад досліджуваних ліпофільних фракцій дещо відрізняється. У хлороформній фракції з кори осики виявлено 17 речовин, петролейній – 11, хладоновій – 9. Локалізацію хлорофілів на хроматограмах відмічали за характерним зеленим забарвленням у видимому світлі та яскраво-червоною флуоресценцією в УФ-світлі ( $\lambda = 366$  нм), каротиноїди – у видимому світлі за жовтим або жовтогарячим, а в УФ-світлі за брунатним забарвленням. В УФ-світлі виявляються також плями ксантофілів. За характером флуоресценції в УФ-світлі та результатами реакцій з діазотованою сульфаниловою кислотою не менш 3 речовин віднесені до кумаринів; 3% розчином хлориду окисного заліза (III), 10% спиртовим розчином натрію гідроксиду, 1% спиртовим розчином хлориду алюмінію – не менш 5 речовин агліконів флаваноїдів.

Проведено аналіз тримірних спектрів флуоресценції та їх проєкції на площину збудження/випромінювання, представлених в логарифмічних шкалах інтенсивності (рис. 4, 5, 6), який сприяв більш детальному визначенню якісного складу досліджуваних об'єктів. Піки в ділянках збудження – 350 нм та випромінювання – 420 нм вказують на наявність агліконів флаваноїдів. Стосовно хладонової фракції – піки в ділянках збудження – 270 нм та випромінювання – 315-330 нм свідчать про наявність ненасичених ліпідів (фосфоліпідів), простих фенолів. Для досліджуваних зразків характерними були піки в ділянках збудження – 260, 310-320 нм та випромінювання – 420 нм, що вказували на присутність агліконів флавононів та флавонолів; піки в областях збудження – 400-430, 505, 540, 610, 650-680 нм та випромінювання – 660-680 нм – це ділянка флуоресценції хлорофілів.

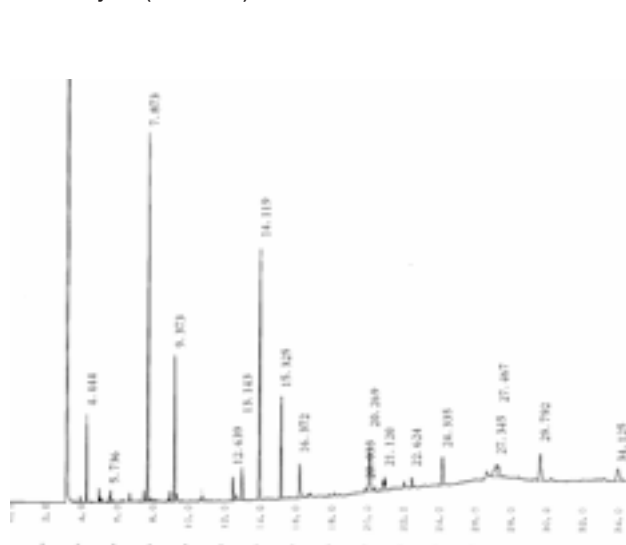
Встановлено, що жирнокислотний склад кори тополі представлений 1 насиченими та 10 ненасиченими жирними кислотами (рис.1, 2). Найбільша кількість суми насичених кислот у корі тополі тремтячої (58,97 %) відмічається при екстрагуванні сировини хлороформом, а суми ненасичених (89,84 %) – хладоном. Серед насичених кислот домінують міристинова та пальмі-

тинова кислоти, з ненасичених переважають олеїнова, лінолева та  $\alpha$ -ліноленова кислоти, які

є незамінними та входять до складу комплексу вітаміну F (табл. 1).



**Рис. 1.** Схема хроматограми метилових ефірів жирних кислот кори тополі тремтячої (фреоновий екстракт).



**Рис. 2.** Схема хроматограми метилових ефірів жирних кислот кори тополі тремтячої (хлороформний екстракт).

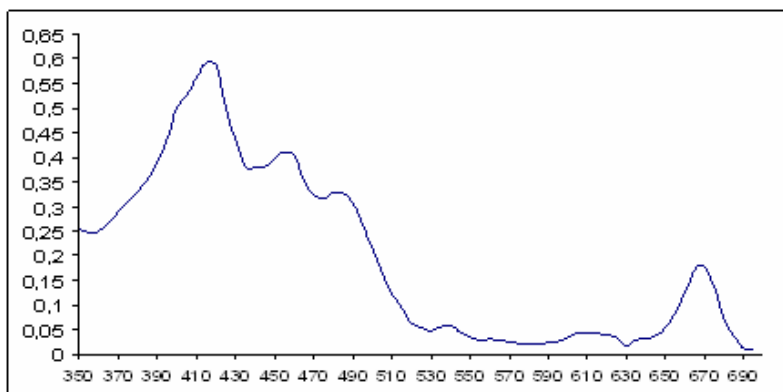
**Таблиця 1.** Склад жирних кислот ліпофільних комплексів кори тополі тремтячої

Кислота	Індекс	Досліджуваний екстракт	
		хлороформний	фреоновий
		3,8624	–
Капринова	C <sub>10:0</sub>		
Лауринова	C <sub>12:0</sub>	1,0711	–
ізо-Міристинова	C <sub>14:0</sub>	–	–
Міристинова	C <sub>14:0</sub>	22,1406	0,3969
Пальмітинова	C <sub>16:0</sub>	10,0422	0,5269
ізо-Стеаринова	C <sub>18:0</sub>	1,9151	–
ізо-Стеаринова	C <sub>18:0</sub>	–	6,7772
Стеаринова	C <sub>18:0</sub>	2,5807	1,3169
Олеїнова	C <sub>18:1</sub>	20,1482	4,9491
Лінолева	C <sub>18:2</sub>	8,3124	66,1371
$\alpha$ -Ліноленова	C <sub>18:3</sub>	4,0460	13,0994
ізо-Арахінова	C <sub>20:0</sub>	0,7602	–
Арахінова	C <sub>20:0</sub>	5,0904	1,1425
	C <sub>20:1</sub>	–	0,5604
	C <sub>20:2</sub>	0,9567	–
	C <sub>21:0</sub>	3,4486	–
	C <sub>21:1</sub>	1,9580	–
Бегенова	C <sub>22:0</sub>	3,4745	–
	C <sub>22:1</sub>	–	0,3974
Ерукова	C <sub>22:1</sub>	–	0,5640
	C <sub>22:2</sub>	–	2,1133
Лігнациринова	C <sub>24:0</sub>	4,8346	–
	C <sub>24:1</sub>	–	0,4981
	C <sub>26:0</sub>	3,2019	–
Сума насичених кислот		58,9737	10,1604
Сума ненасичених кислот		41,0263	89,8396

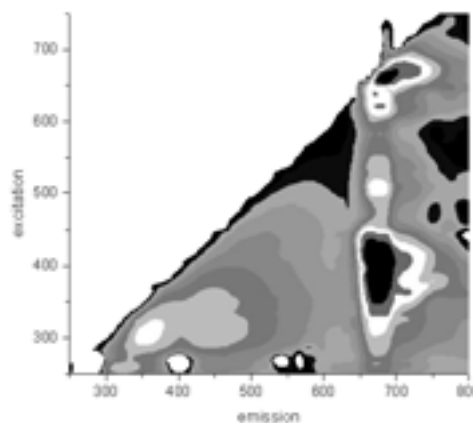
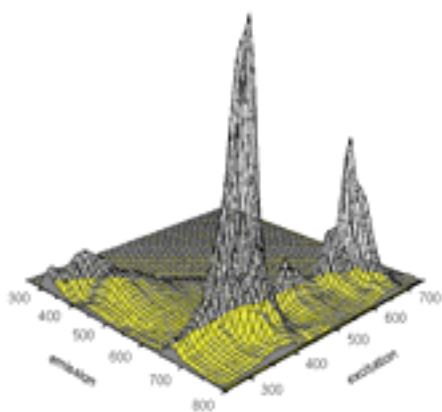
Спектрофотометричним методом встановлено кількісний вміст основних біологічно активних речовин у ліпофільних екстрактах з кори осики (рис. 3).

Кількісний вміст суми хлорофілів: у хлороформному екстракті – 42,8 мг/г, петролейному –

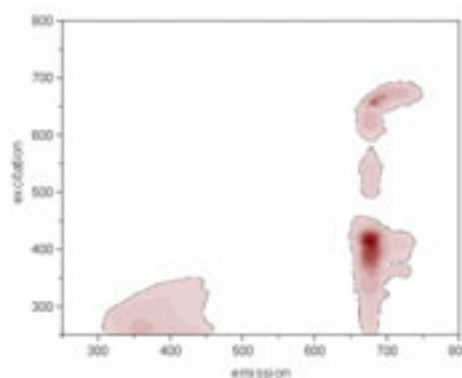
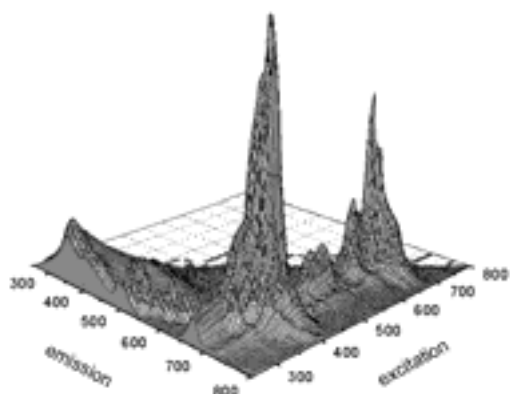
29,25 мг/г, хладоновому – 2,24 мг/г; каротиноїдів: у хлороформному екстракті – 28,61 мг/г, петролейному – 23,47 мг/г, хладоновому – 18,02 мг/г, флаваноїдів: у хлороформному екстракті – 17,17мг/г, петролейному – 14,23 мг/г, хладоновому – 1,02мг/г.



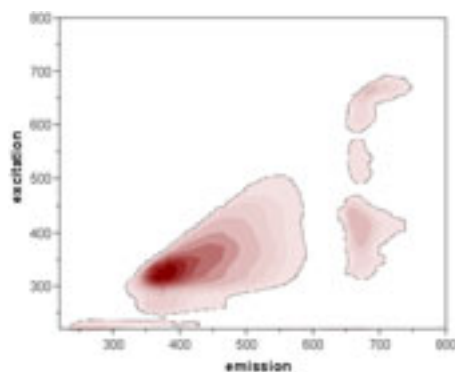
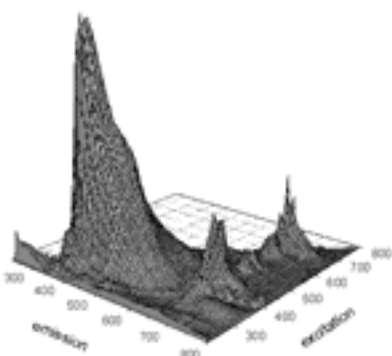
**Рис. 3.** Спектр поглинання розчину ліпофільних екстрактів з кори тополі тремтячої.



**Рис. 4.** Тривимірний спектр флуоресценції хлороформного екстракту кори тополі тремтячої.



**Рис. 5.** Тривимірний спектр флуоресценції петролейного екстракту кори тополі тремтячої.



**Рис. 6.** Тривимірний спектр флуоресценції фреонового екстракту кори тополі тремтячої.

За результатами проведених мікробіологічних досліджень виявлено, що досліджувані ліпофільні екстракти володіють широким спектром мікробіцидної активності відносно грам-

позитивних та грамнегативних мікроорганізмів. Високочутливими до хладонового екстракту є *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. Aeruginosa*.

Ліпофільні фракції з кори тополі тремтячої містять фенольні сполуки, ліпіди, хлорофіли, каротиноїди, стерини, якісний склад та кількість яких в екстракті залежить від обраного екстрагенту. Поглиблене вивчення ліпофільних сполук кори тополі тремтячої сприятиме створенню нових ефективних препаратів з різними видами біологічної активності.

**Висновки.** 1. Одержано ліпофільні екстракти

з кори тополі тремтячої і вивчено їх хімічний склад.

2. Отримали тривимірні спектри флуоресценції, які мають характерний вигляд для кожної ліпофільної фракції, що дозволяє використовувати їх для ідентифікації.

Значний вміст біологічно активних речовин в ліпофільних фракціях осики свідчить про перспективність їх подальшого вивчення з метою створення нових лікарських засобів.

### Література

1. Антиоксидантні засоби – необхідні компоненти комплексної фармакотерапії / Н.О. Горчакова, С.А. Олійник, К.Г. Гаркава та ін. // Фітотерапія в Україні. – 2000. – № 1. – С. 7-13.
2. Бородіна Н.В. Фармакогностичне дослідження рослин роду тополя: Автореф. дис. канд. фарм. наук: 22.06.07. АМН України. – К., 2007. – 20 с.
3. Бородіна Н.В., Ковальов В.М. Вивчення ліпофільної фракції листя *Populus alba* L. // Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії: Матеріали Всеукраїнського науково-практичного семінару (26 листопада 2004 р., м. Харків). – Х.: Вид-во НФаУ, 2004. – С. 282-286.
4. Бородіна Н.В., Ковальов В.М., Ковальов С.В., Рудник А.М. Біологічно активні речовини роду *Populus* L. (огляд) // Фармаком. – 2006. – № 1/2. – С. 110-119.
5. Ковальов В.М., Бородіна Н.В. Вивчення ліпофільних речовин *Populus tremula* // Вісник фармації. – 2003. – № 4 (36). – С. 55 - 59.
6. Визначення видового походження рослинних олій / В.А. Параніч, А.О. Дорошенко, О.Д. Рошаль та ін. //

Фармацевтичний журнал. – 2000. – № 5. – С. 86-89.

7. Гусакова С.Д., Сагдулаев Ш.Ш., Хушбакова З.А. Ліпофільні екстракти в фитотерапии и фитокосметике. Получение и биологические свойства // Химия природных соединений. – 1998. – № 4. – С. 437-447.

8. Державна Фармакопея України / МОЗ України. – 1-ше видання. – Харків, 2001. – 532 с.

9. Ковальов В.М., Бородіна Н.В. Вивчення ліпофільної фракції бруньок тополі тремтячої // Тези доповідей Всеукраїнської науково-практичної конференції «Фармація XXI століття» (23-24 жовтня 2002 року, м. Харків). – Харків, 2002, С. 84-85.

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

11. Патент 73209, Україна МПК7, А61К35/78. Спосіб одержання біологічно активних комплексів кори осики, які виявляють антимікробну, репаративну, протизапальну, анальгетичну та діуретичну активність / Н.В. Бородіна, В.М. Ковальов, І.Л. Дикий, Н.В. Деркач, Л.М. Малоштан, В.А. Волковий – Опубл. 15.06.05. – Бюл. № 6.

### ЛИПОФИЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА POPULUS TREMULA L.

**В.Н. Ковалев, Н.В. Бородин, А.М. Рудник, В.В. Альхусейн**

*Национальный фармацевтический университет, Харьков*

**Резюме:** в работе представлены результаты изучения липидного состава *Populus tremula* L. Определено количественное содержание липофильных фракций в растительном сырье. Выявлено наличие хлорофиллов, каротиноидов, фенольных веществ с помощью качественных реакций и хроматографических методов. Установлено количественное содержание хлорофиллов, флавоноидов и суммы каротиноидов в липофильных фракциях *Populus tremula* L. Определен жирнокислотный состав коры осины.

**Ключевые слова:** тополь дрожащий, фенольные вещества, хлорофиллы, каротиноиды, липиды.

### LIPOPHILIC SUBSTANCES OF POPULUS TREMULA L.

**V.M. Kovalyov, N.V. Borodina, A.M. Rudnyk, V.V. Alkhusein**

*National University of Pharmacy, Kharkiv*

**Summary:** this work deals with the results of study of lipid content of *Populus tremula* L. bark. The quantitative content of lipophilic fractions in the plant raw material has been determined. The presence of chlorophylls, carotenoids and

phenolic substances has been detected with the help of qualitative tests and chromatographic methods. The quantitative content of chlorophylls, flavonoids and sum of carotenoids in re-computation on  $\beta$ -carotene in lipophilic fractions of *Populus tremula* has been established. Fatty-acid composition of aspen bark has been determined.

**Key words:** populus tremula, phenolic substances, chlorophylls, carotenoids, lipids.

Рекомендована д-м фармац. наук, проф. С.М. Марчишин

УДК 615.014:582.929.4

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ЕФІРНИХ ОЛІЙ ДВОХ ФОРМ *LOPHANTHUS ANISATUS* ADANS.

©М.І. Шанайда, О.С. Швидків

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

**Резюме:** проаналізовано фізико-хімічні показники та компонентний склад ефірної олії двох форм *Lophanthus anisatus* Adans. – білоквіткової та фіолетовоквіткової, які вирощено в умовах Тернопільської області. Встановлено, що домінуючими компонентами ефірних олій обох форм є фенолпропаноїд метилхавікол та монотерпеноїди пулегон, лімонен та ізоментон.

**Ключові слова:** *Lophanthus anisatus*, ефірна олія, метилхавікол, пулегон, лімонен, ізоментон.

**Вступ.** Значний інтерес для фармації у напрямку створення нових фітопрепаратів представляють маловивчені ефіроолійні лікарські рослини, у яких цінні лікувальні властивості поєднуються із добрими смаковими якостями та приємним запахом [3, 5, 7, 8, 12].

До перспективних ефіроолійних рослин можна віднести лофант анісовий (*Lophanthus anisatus* Adans.) (ЛА) – неофіціальну лікарську рослину родини Губоцвітих (*Lamiaceae*), яка в Україні поступово поширюється в культурі. На сьогодні в Україні культивують два різновиди (форми) ЛА – фіолетовоквіткову та білоквіткову. За даними різних авторів [3, 5], обидві форми ЛА здавна використовують у народній медицині як відхаркувальні, протизапальні, загальнотонізуючі фітозасоби. Вказані лікувальні властивості ЛА науковці пояснюють впливом його ефірної олії, проте її компонентний склад на сьогодні вивчений недостатньо [3-5, 7]. Що стосується порівняльного аналізу ефірних олій двох форм ЛА (білоквіткової та фіолетовоквіткової), то на сьогодні такі дані в літературні відсутні. Разом з тим, поступове впровадження у фармацевтичну практику ефірних олій потребує детального аналізу їх якісного складу [6, 11].

Мета дослідження – порівняльний якісний та кількісний аналіз ефірних олій двох форм ЛА (біло- та фіолетовоквіткової), вирощених на дослідних ділянках ботанічного саду Терно-

пільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського (с. Дружба Терновлянського р-ну Тернопільської обл.) Ці дані необхідні як для з'ясування можливості подальшого використання ЛА в медичній практиці [3, 8], так і для вирішення окремих питань хемотаксономії родини *Lamiaceae*, які на сьогодні потребують оновлення та уточнення [4, 12].

**Методи дослідження.** Ефірну олію отримали із висушеної надземної частини двох форм ЛА шляхом перегонки з водяною парою методом 4 згідно з ДФ XI [1]. Масову частку ефірної олії визначали у перерахунку на абсолютно суху сировину.

Дослідження фізико-хімічних показників та компонентного складу ефірних олій здійснювали відповідно до вимог ДФ XI [1]. Компонентний склад ефірної олії обох форм ЛА досліджували на газовому хроматографі Agilent Technologies 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. Використано кварцову колонку довжиною 3 м, внутрішнім діаметром 0,25 мм, газ-носії – гелій.

**Результати й обговорення.** На основі органолептичного аналізу ефірної олії ЛА встановлено таке: в обидвох форм (біло- і фіолетовоквіткової) вона світло-жовта, прозора, зі своєрідним м'ятно-анісовим запахом. Смак ефірної олії фіолетовоквіткової форми ЛА гіркувато-пекучий зі злегка охолоджувальною дією на сли-