

ХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ЛІПОФІЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ НУТУ ЗВИЧАЙНОГО

© **А.В. Черкашина, В.М. Ковальов, С.В. Ковальов**

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: у статті представлені результати вивчення ліпофільного екстракту з трави нуту звичайного (*Cicer arietinum*). Визначено кількісний вміст ліпофільної фракції в рослинній сировині, який склав 3,6 %. За допомогою хроматографічних методів та якісних реакцій встановлено наявність каротиноїдів, хлорофілів і токоферолів. Кількісний вміст каротиноїдів склав 0,89 %, хлорофілів – 1,95 %. Визначено жирнокислотний склад трави нуту звичайного.

Ключові слова: нут звичайний, каротиноїди, хлорофіли, токофероли, жирні кислоти.

ВСТУП. Нут звичайний (*Cicer arietinum* L.) відноситься до родини бобових (Fabaceae). Нут – одна з найдавніших культур світового землеробства, яка за площею посівів посідає третє місце серед зернобобових рослин. Батьківщиною нуту звичайного вважають Західну Азію. В нашій країні основні виробничі посіви нуту зосереджені в Криму і в степових районах Херсонської, Запорізької, Миколаївської, Полтавської, Дніпропетровської та Одеської областях [6, 10].

За літературними даними, рослини роду нут (*Cicer*) містять різноманітні біологічно активні речовини. З надземної частини *C. arietinum*, *C. flexuosum*, *C. macracanthum*, *C. pungens*, *C. baldshuanicum*, *C. kopetdaghense* та інших виділені речовини флавоноїдної природи (кверцетин, кемпферол, ізорамнетин, формонетин, даїдзєїн, пратензєїн, біоханін А), їх глікозиди (кемпферол-3-глюкозид, формонетин-7-глюкозид, ізорамнетин-3-глюкозид та ін.), кумарини (скополетин, умбеліферон) та похідні фенолкарбонових кислот (ферулова кислота). Листя нуту містить щавлеву, лимонну та яблучну кислоти [4, 8, 9, 12-14].

Ліпофільні речовини з трави нуту звичайного практично не вивчені, а розробці лікарських засобів, до складу яких входять біологічно активні речовини ліпофільної природи (ненасичені жирні кислоти, каротиноїди, токофероли та ін.), сучасні виробники приділяють велику увагу. Тому об'єктом нашого дослідження була ліпофільна фракція з трави *Cicer arietinum*.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для одержання ліпофільної фракції подрібнену траву нуту звичайного вичерпно екстрагували хлороформом. Екстракцію проводили в апараті Сокслета. Отриманий хлороформний екстракт випарювали до видалення екстрагента та зважували. Після цього визначали відсотковий вміст отриманих сумар-

них комплексів та органолептичні показники.

Визначення каротиноїдів, хлорофілів та токоферолів проводили методом тонкошарової хроматографії на пластинках SilufolS в одновимірному і двовимірному варіантах у системах розчинників гексан-ацетон (6:4) – I напрямом, гексан-ацетон (6:2) – II напрямом. Схема двовимірної тонкошарової хроматограми хлороформного екстракту з трави нуту звичайного наведена на рисунку 1 [7].

Якісне визначення каротиноїдів на хроматограмах проводили за характерним жовтим та жовтогарячим забарвленням, а в УФ-світлі – за коричневою флуоресценцією плям. Для підтвердження наявності каротиноїдів хроматограми обробляли 2 % розчином *n*-диметиламінобензальдегіду у суміші етанолу та хлористоводневої кислоти. Після обробки хроматограми висушували при 80-90 °C протягом 5-7 хв. Плями, які відповідали каротиноїдам, забарвлювалися в рожево-фіолетовий колір [5, 16].

Локалізацію хлорофілів на хроматограмі визначали за характерним темно-зеленим забарвленням та за яскраво-червоною флуоресценцією в УФ-світлі [1, 2].

Визначення токоферолів проводили за характерною флуоресценцією в УФ-світлі та за характерним синьо-фіолетовим забарвленням плям на хроматограмі при обробці парами йоду [1, 3, 16].

Кількісне визначення каротиноїдів та хлорофілів проводили спектрофотометричним методом. Для цього брали 0,05 г (т.н.) ліпофільного екстракту та розчиняли його в 50,0 мл хлороформу. Визначення β-каротину та хлорофілу А можна проводити в одному розчині, бо максимуми їх поглинання лежать у різних областях (максимум поглинання β-каротину при довжині хвилі 453 нм, а хлорофілу А – при 670 нм). Оптичну густину отриманого розчину визначали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 453 нм

та 670 нм у кюветах з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був хлороформ.

Значну частину природних ліпофільних комплексів складають жирні кислоти. Визначення якісного та кількісного вмісту жирних кислот проводили методом газорідинної хроматографії (ГРХ) на полярних нерухомих фазах з попереднім метилюванням жирних кислот для одержання низькокиплячих летких похідних. З цією метою 1,0 г ліпофільного екстракту розчиняли в 10 мл петролейного ефіру (80-100 °С) і двічі обробляли 5 мл 10 % розчину калію гідроксиду. Отримані розчини поєднували і нейтралізували 1 % водним розчином хлористоводневої кислоти до одержання кислої реакції (рН 5,0-5,5) за універсальним індикатором. Водний розчин тричі обробляли по 10 мл діетиловим ефіром, органічну фазу об'єднували, сушили безводним кристалічним сульфатом натрію і відганяли ефір в струмі азоту для запобігання пероксидації ненасичених жирних кислот. Потім пробу піддавали негайній переетерифікації за модифікованою методикою Пейськера сумішшю хлороформ-метанол-концентрована сульфатна кислота (100:100:1) в запаяних ампулах протягом 3 годин при 100 °С. Після охолодження і розкриття ампул метилові ефіри жирних кислот розчиняли в мінімальній кількості циклогексану і піддавали ГРХ на хроматографі з полум'яно-іонізаційним детектором Shimadzu GC-14BS. Визначення проводили при наступних умовах: газ-носій – гелій особливої чистоти; потік газу-носія – 1мл/хв; температура: інжектора – 240 °С; детектора – 250 °С; колонки – 160 °С; розміри колонки – 60 мм × 0,32 мм; твердофазний носій – SHP-23S з зернінням 0,25 мкм, розділення 1:170; розчинник – циклогексан.

Ідентифікацію метилових ефірів здійснювали за часом утримання піків стандартною сумішшю. Вміст жирних кислот обчислювали у відсотках від їх суми [3, 11, 15].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Одержали ліпофільну фракцію з трави нуту звичайного, вихід склав 3,6 %.

З метою стандартизації отриманої ліпофільної фракції нами були вивчені органолептичні та деякі фізико-хімічні показники [3].

Одержаний ліпофільний екстракт являє собою густу однорідну масу без зайвих включень темно-зеленого кольору зі специфічним ароматним запахом та своєрідним смаком, яка практично не розчиняється у воді, спирті і добре розчиняється у хлороформі.

У результаті проведеного хроматографічного аналізу ліпофільної фракції встановлена наявність каротиноїдів, хлорофілів та токоферолів. Схема ТШХ наведена на рисунку 1.

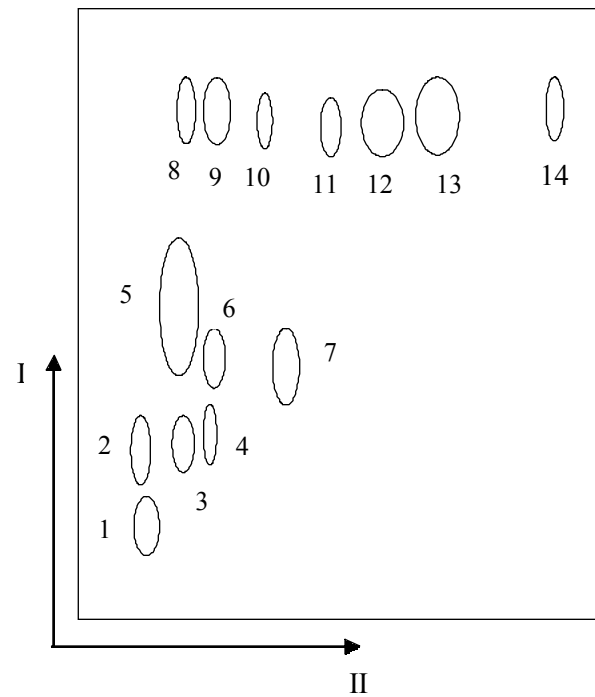


Рис. 1. Схема тонкошарової хроматограми ліпофільного екстракту з трави нуту звичайного. Система розчинників: I напрямком – гексан:ацетон (6:4); II напрямком – гексан:ацетон (6:2).

У ліпофільній фракції знайдено 14 речовин. Речовини 3, 4, 7 були віднесені нами до токоферолів, речовини 1, 6, 12 – до каротиноїдів, речовини 2, 5, 13 – до хлорофілів.

Кількісний вміст каротиноїдів у ліпофільній фракції з трави нуту звичайного склав 0,89 %, хлорофілів – 1,95 %.

Газорідинною хроматографією визначено жирнокислотний склад трави нуту звичайного. Виявлено 14 жирних кислот, з яких 11 ідентифіковано (4 насичених та 7 ненасичених). У кількісному відношенні переважає ліноленова кислота – 36,51 %, яка є незамінною жирною кислотою і разом з лінолевою (13,07 %) та еруковою (0,77 %) кислотами входить до складу комплексу вітаміну F. Серед насичених жирних кислот найбільший відсоток складають пальмітинова (17,78 %) та лігноцеринова (17,02 %) (рис. 2, табл. 1).

ВИСНОВКИ. 1. Отримано ліпофільну фракцію з трави нуту звичайного методом вичерпної екстракції хлороформом в апараті Сокслета. Кількісний вміст ліпофільної фракції склав 3,6 %.

2. Встановлено наявність каротиноїдів, хлорофілів та токоферолів. Визначено кількісний вміст каротиноїдів – 0,89 % і хлорофілів – 1,95 %.

3. Методом газорідинної хроматографії встановлено якісний та кількісний склад жирних кислот в ліпофільній фракції з трави нуту звичайного.

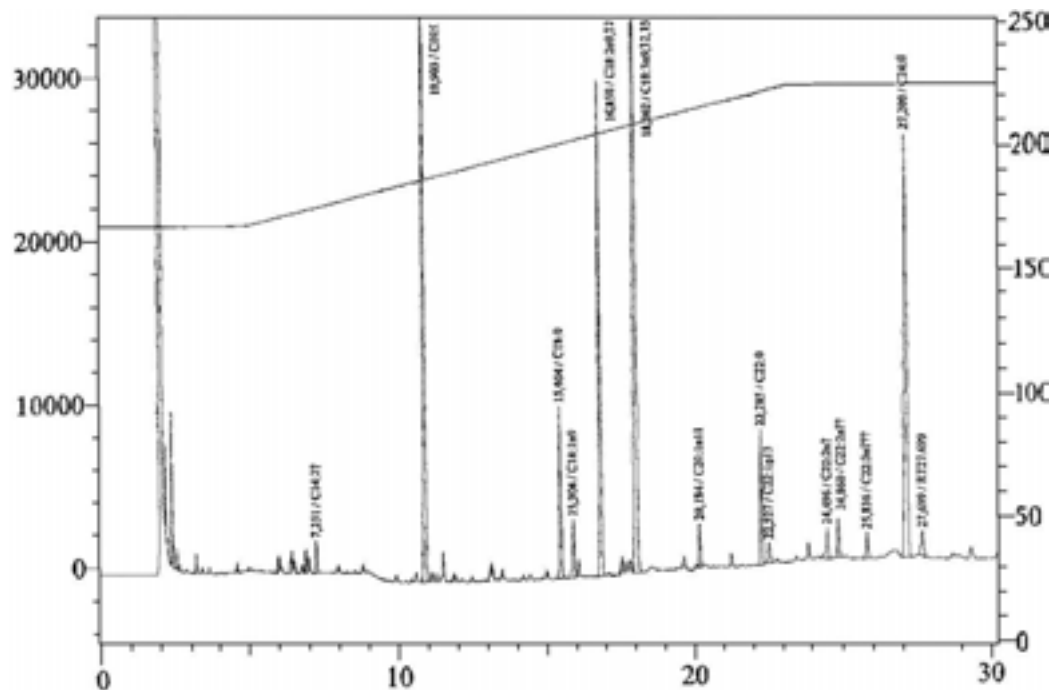


Рис. 2. Схема газорідинної хроматографії ліпофільного екстракту з трави нуту звичайного.

Таблиця 1. Жирнокислотний склад ліпофільної фракції з трави нуту звичайного

№ за/п	Загальна формула	Назва кислоти	Вміст, % від суми
<i>Насичені жирні кислоти</i>			
1	2	3	4
1	C _{16:0}	Пальмітинова	17,78
2	C _{18:0}	Стеаринова	4,28
3	C _{22:0}	Бегенова	3,50
4	C _{24:0}	Лігноцерінова	17,02
<i>Ненасичені жирні кислоти</i>			
5	C _{18:1}	Олеїнова	1,60
6	C _{18:2}	Лінолева	13,07
7	C _{18:3}	Ліноленова	36,51
8	C _{20:1}	Гандолієва	1,06
9	C _{22:1}	Ерукова	0,77
10	C _{22:2}	Ц-докозадієнова	1,09
11	C _{22:3}	Ц-докозатрієнова	0,79
12	Сума насичених кислот		42,58
13	Сума ненасичених кислот		54,89

Визначено 11 жирних кислот (4 насичених та 7 ненасичених). У кількісному відношенні переважають ліноленова (36,51 %), лінолева (13,07 %),

пальмітинова (17,78 %) та стеаринова (17,02 %) кислоти.

Література

1. Берестова С.І., Ковальов В.М., Ковальов С.В., Комісаренко А.М. Хімічне вивчення ліпофільної фракції з шишок хмелю звичайного // Вісник фармації. – 2006. – №1(45). – С.22-25.
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 / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр" – 1-ше вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
4. Казаков А.Л., Компанцев В.А., Леонтьева Т.П. Флавоноиды *Cicer arietinum*. // Химия природных соединений. – 1980. – № 5. – С.721-722.
5. Кудрицкая С.Е. Каротиноиды плодов и ягод. – К.:

- Вища школа, 1990. – 221 с.
6. Кьосев П.А. Полный справочник лекарственных растений. – М.: ЭКСМО-Пресс, 2001. – 992 с.
7. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам. В 2-х ч. / Под ред. О. Микеша. – М.: Мир, 1982. – 781 с.
8. Лукьянчиков М.С. Флавоноиды некоторых видов *Cicer* флоры Средней Азии. // Химия природных соединений. – 1992. – №1. – С.138-139.
9. Лукьянчиков М.С. Фенольные соединения *Cicer arietinum*. // Химия природных соединений. – 1992. – №2. – С.282-283.
10. Січкач В.І., Бушулян О.В. Перспективи селекції нуту в умовах південного степу України // Вісник аграрної науки. – 2000. – №1. – С.38-40.
11. Фармакогнозія з основами біохімії рослин: Підручн. для студ. / За ред. В.М. Ковальова. – Х.: Вид-во НФАУ, “Прапор”, 2000. – 704 с.
12. Barz W., Hösel W. Über den umsatz von flavonolen und isoflavonen in *Cicer arietinum* “Phytochemistry. – 1971 – Vol. 10 (2). P. 335-341.
13. Philip C. Stevenson, Nigel C. Veitch. The distribution of isoflavonoids in *Cicer* // Phytochemistry. – 1998. – Vol. 48 (6). – P. 995-1001.
14. Philip C. Stevenson, Shazia N. Aslam. The chemistry of the genus *Cicer* L. Studies in Natural Product Chemistry // Bioactive Natural Products (Part M). – 2006 – Vol. 33 (13), P. 905-956.
15. Vladimirov Yu.A. Natural antioxidants / Ed.L. Parker. – New York, 1996. – P. 125-241.
16. Wagner H., Bladt S. Plant drug analysis. – Berlin: Springer, 2001. – 384 p.

ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОФИЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ИЗ ТРАВЫ НУТА ОБЫКНОВЕННОГО

А.В. Черкашина, В.Н. Ковалев, С.В. Ковалев

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Резюме: представлены результаты изучения липофильной фракции из травы нута обыкновенного (*Cicer arietinum*). Определено количественное содержание липофильной фракции в растительном сырье, которое составило 3,6 %. Установлено наличие хлорофиллов, каротиноидов и токоферолов при помощи проведенного хроматографического анализа и качественных реакций. Количественное содержание каротиноидов составляет 0,89 %, хлорофиллов – 1,95 %. Определен жирнокислотный состав травы нута обыкновенного.

Ключевые слова: нут обыкновенный, каротиноиды, хлорофиллы, токоферолы, жирные кислоты.

CHEMICAL STUDY OF LYPOPHILIC FRACTION FROM CICER ARIETINUM L. HERB

A.V. Cherkashyna, V.M. Kovalyov, S.V. Kovalyov

National Pharmaceutical University, Kharkiv

Summary: The work presents the results of the study of lypophilic fraction from Chick-pea herb (*Cicer arietinum*l). The quantitative contents of lypophilic fraction being 3,6 % in the raw material has been determined. The presence of chlorophylls, carotenoids and tocopherols has been established by the qualitative reactions and paper chromatography. The quantitative contents of chlorophylls is 1,95 %, carotenoids – 0,89 %. The composition of free fatty acids has been determined.

Key words: *Cicer arietinum* L., carotenoids, chlorophylls, tocopherols, fatty acids.