Рекомендована д.ф.н., професором А.Г.Сербіним

УДК 615.322

ОТРИМАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ ГРИНДЕЛІЇ РОЗЧЕПІРЕНОЇ

І.В.Ковальова-Загравська, В.М.Ковальов, І.О.Журавель

Національна фармацевтична академія України

Методом вичерпної екстракції хлороформом в апараті Сокслета отримані і досліджені ліпофільні фракції трави та кошиків гринделії розчепіреної. Визначено кількісний вміст ліпофільних фракцій в рослинній сировині. Встановлена наявність хлорофілів, каротиноїдів та токоферолів в ліпофільних екстрактах за допомогою якісних реакцій та хроматографічних методів. Визначено кількісний вміст хлорофілів і сума каротиноїдів у перерахунку на β-каротин у ліпофільних фракціях трави та кошиків гринделії розчепіреної. Встановлена значна антимікробна активність ліпофільних фракцій трави та кошиків гринделії розчепіреної по відношенню до Staphylococcus aureus та Bacillus subtilis.

Останнім часом учені все більшу увагу приділяють дослідженню ліпофільної фракції з лікарських рослин [1, 2, 4, 7]. І це не випадково, тому що вона містить багато біологічно активних речовин, таких як хлорофіли, каротиноїди, токофероли, фітостероли, ліпіди, жирні кислоти та інші. Ці речовини мають широкий спектр біологічних властивостей. Найчастіше вони виявляють протизапальну, репаративну, антисептичну та протиалергічну дію [2, 3, 7, 8, 10, 12].

Ліпофільні екстракти широко використовуються у фітотерапії та фітокосметиці [2, 9, 11]. На їх основі створено багато лікарських препаратів для перорального та зовнішнього застосування. Серед них хлорофіліпт, шипшинова олія, обліпихова олія та інші.

Об'єктом нашого дослідження була обрана гринделія розчепірена, широко розповсюджена на території України, недостатньо вивчена рослина, яка також містить сполуки ліпофільної природи. Тому ми вирішили отримати і вивчити ліпофільні екстракти з трави та кошиків цієї рослини. Метою нашого дослідження стало якісне та кількісне вивчення хлорофілів, каротиноїдів та токоферолів у ліпофільних фракціях гринделії розчепіреної. Отримані фракції при подальшому дослідженні показали значну антимікробну активність, особливо по відношенню до Staphylococcus aureus та Bacillus subtilis.

Експериментальна частина

Ліпофільні фракції отримували з трави та кошиків гринделії розчепіреної. Для цього по 10,0 г подрібненої сировини (трави та кошиків окремо) вичерпно екстрагували хлороформом в апараті Сокслета. Отримані хлороформні екстракти випарювали до видалення екстрагенту та зважували. Після цього визначали відсотковий вміст ліпофільної фракції в сировині.

Для якісного аналізу хлорофілів використовували метод хроматографії в тонкому шарі сорбенту в двомірному варіанті. Локалізацію цих речовин на хроматограмах відмічали за характерним зеленим забарвленням у видимому світлі, яке при фільтрованому УФ-світлі (λ=366 нм) перетворюється на яскраво-червону флюоресценцію [6].

При якісному аналізі каротиноїдів застосовували також метод двомірної тонкошарової хроматографії. Каротиноїди виявляли у видимому світлі за характерним жовтим або оранжевим забарвленням, яке в УФ-світлі (λ = 366 нм) перетворювалось в коричневе. Для уточнення результатів візуального контролю хроматограми обробляли 2%-ним розчином диметиламінобензальдегіду в суміші етанолу і хлористоводневої кислоти. В результаті обробки з наступним витримуванням хроматограм у сушильній шафі при 80-90°С протягом 5-7 хвилин плями, які відповідали каротиноїдам, забарвлювалися у синьо-фіолетовий колір. Для приготування реактиву 2%-ного розчину диметиламінобензальдегіду брали 1 г диметиламінобензальдегіду, додавали до нього 5 мл концентрованої хлористоводневої кислоти та доводили до 50 мл 96%-ним етанолом.

Якісне визначення токоферолів проводили за допомогою наведеної реакції: 0,05 г ліпофільної фракції розчиняли в 1 мл хлороформу у пробірці з притертою пробкою, додавали 2 мл 0,2% розчину кислоти фосфорномолібденової у льодяній оцтовій кислоті.

Для кількісного визначення хлорофілів використовували фотоелектроколориметричне визначення [6]. Хлорофіли визначали в траві, кошиках та ліпофільних фракціях гринделії згідно з наведеною далі методикою. 0,5 г трави (кошиків) екс-

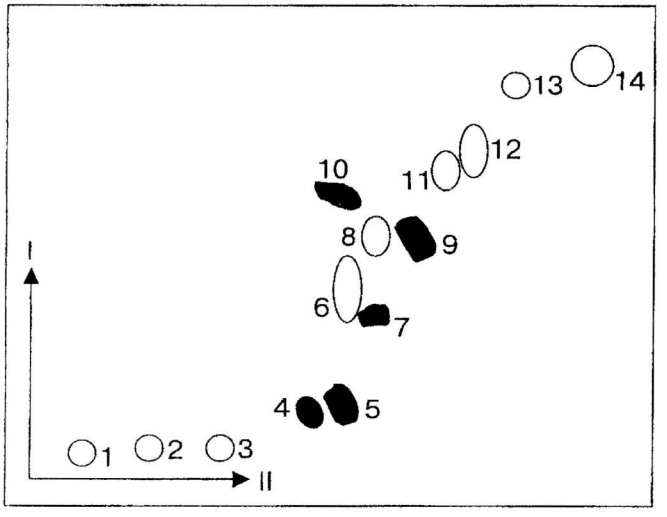

Рис.1. Схема хроматограми ТШХ аналізу ліпофільного екстракту трави гринделії. I — напрямок гексан — ацетон (6:2); II — напрямок гексан — ацетон (6:4).

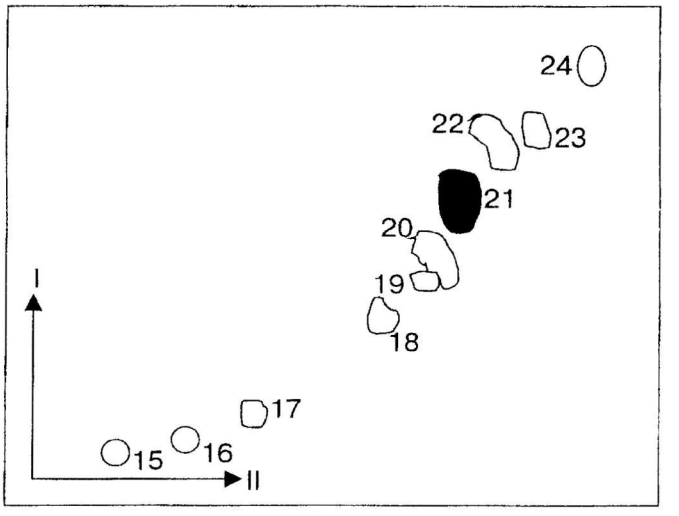

Рис.2. Схема хроматограми ТШХ аналізу ліпофільного екстракту кошиків гринделії. I — напрямок гексан — ацетон (6:2); II — напрямок гексан — ацетон (6:4).

трагували 96%-ним етанолом до отримання безбарвних витяжок. Об'єднані витяжки фільтрували, фільтрат вміщували в мірну колбу місткістю 50 мл і об'єм розчину доводили до мітки 96%-ним етанолом. Оптичну густину визначали на фотоелектроколориметрі КФК-2УХЛ з червоним світлофільтром №9 при товщині поглинаючого шару 10 мм. Розчином порівняння був 96%-ний етанол. Одночасно виміряли оптичну густину стандартного розчину Гетрі в тих же умовах [5]. Вміст хлорофілу у відсотках (X) в перерахунку на абсолютно суху сировину вираховували за формулою:

$$X = \frac{D_1 * P * A * 100 * 100}{D_2 * a * (100 - b)},$$

де: D_1 — оптична густина досліджуваної витяжки;
D_2 — оптична густина стандартного розчину;
P — розведення;
A — кількість хлорофілу, г в мл у відповідності із забарвленням 1 мл стандартного розчину Гетрі;
a — маса сировини;
b — вологість, %.

Приготування стандартного розчину Гетрі: 4%-ний розчин калію біхромату — 50 мл; 1%-ний розчин сульфату міді — 28,5 мл; 10%-ний розчин гідроксиду амонію — 10 мл; вода дистильована — до 100 мл; 1 мл отриманого розчину відповідає за забарвленням 0,000085 г хлорофілу.

Для кількісного аналізу хлорофілів у ліпофільних фракціях гринделії брали по 0,2 г (точні наважки) ліпофільних фракцій, розчиняли в 96%-ному етанолі в мірних колбах на 50 мл та доводили до мітки цим же розчинником. Далі визначали кількісний вміст хлорофілів згідно з наведеною вище методикою.

Кількісний вміст каротиноїдів у ліпофільних фракціях трави та кошиків гринделії розчепіреної визначали згідно з наведеними методиками [3]. Точну наважку 0,05 г ліпофільного екстракту вміщували в мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняли в гексані і доводили об'єм розчину до мітки. Оптичну густину отриманого розчину визначали на спектрофотометрі СФ-26 у кюветах з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 450 нм. У ролі розчину порівняння використовували гексан. Паралельно визначали оптичну густину стандартного зразку калію біхромату. Як розчин порівняння використовували воду очищену. Вміст суми каротиноїдів у перерахунку на β- каротин (C, мг %) визначали за формулою:

$$C = \frac{D_1 * 0{,}00208 * 50 * 100}{D_0 * a},$$

де: D_1 — оптична густина розчину ліпофільної фракції;
D_0 — оптична густина стандарту;
a — наважка ліпофільної фракції, г;
0,00208 — концентрація β-каротину (мг/мл) у розчині.

Приготування стандартного розчину: 0,0900 г (точну наважку) калію біхромату вміщували в мірну колбу місткістю 250 мл, розчиняли у воді очищеній та доводили до мітки. Розчин за забарвленням відповідає розчину, що містить 0,00208 мг β-каротину в 1 мл.

Для кількісного визначення каротиноїдів у сировині (траві та кошиках гринделії) ми брали 3,0 (точну наважку) сировини, яку вичерпно екстрагували хлороформом в апараті Сокслета. Після цього розчинник відганяли і брали 0,05 г (точну наважку) отриманого ліпофільного екстракту. Далі поступали за методикою, описаною вище.

Результати та їх обговорення

Одержані ліпофільні екстракти з трави та кошиків гринделії розчепіреної. З метою стандартизації отриманих ліпофільних фракцій були вивчені їх органолептичні та фізико-хімічні власти-

вості. Одержані ліпофільні фракції являють собою густі однорідні маси без зайвих включень зеленого кольору з трави гринделії і жовтого — з кошиків гринделії. Фракції мають приємний запах, характерний для гринделії. Ліпофільні екстракти практично нерозчинні у воді, але розчиняються у 95% спирті, гексані, ацетоні, хлороформі, мінеральних та рослинних оліях. Вміст ліпофільної фракції в траві гринделії розчепіреної склав 14,9%; у кошиках — 27,5%.

При якісному визначенні хлорофілів хроматографічними методами по характерному зеленому забарвленню у видимому світлі, яке при фільтрованому УФ-світлі (λ=366 нм) перетворюється на яскраво-червону флюоресценцію, речовини 4, 5, 7, 9, 10, 21 віднесені до хлорофілів. Схема хроматограми ліпофільної фракції з трави гринделії наведена на рис. 1, а з кошиків гринделії — на рис. 2.

Якісне визначення каротиноїдів у видимому світлі проводили за характерним жовтим або оранжевим забарвленням, яке в УФ-світлі (λ = =366 нм) перетворювалось на коричневе, потім обробляли 2%-ним розчином диметиламінобензальдегіду в суміші етанолу і хлористоводневої кислоти. В результаті обробки з наступним витримуванням хроматограм у сушильній шафі плями, які відповідали каротиноїдам, забарвлювалися у синьо-фіолетовий колір. Схема хроматограми ліпофільного екстракту трави гринделії представлена на рис. 1, кошиків — на рис. 2, де речовини 1-3, 6, 8, 11-20, 22-24 віднесені до каротиноїдів.

Токофероли в реакції з розчином фосфорномолібденової кислоти давали інтенсивне зелене забарвлення, яке підтверджує наявність токоферолів у даних ліпофільних фракціях.

Кількісний вміст хлорофілів проводили фотоелектрокалориметричним методом при товщині поглинаючого шару 10 мм на фотоелектроколориметрі КФК- 2УХЛ з червоним світлофільтром №9, який склав у траві гринделії 0,03%, у кошиках — 0,02%; у ліпофільній фракції трави — 0,14%, кошиків — 0,07%.

Вміст суми каротиноїдів визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі СФ-26 у кюветах з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 450 нм, який склав у перерахунку на β-каротин у траві гринделії (перераховано на абсолютно суху речовину) 1,32%, у кошиках — 1,45% відповідно. Вміст суми каротиноїдів у ліпофільній фракції з трави гринделії (у перерахунку на β-каротин) склав 8,06%, з кошиків — 4,78% відповідно.

ВИСНОВКИ

1. Отримані ліпофільні фракції з трави та кошиків гринделії розчепіреної методом вичерпної екстракції хлороформом в апараті Сокслета. Кількісний вміст ліпофільної фракції трави гринделії склав 14,9%, кошиків — 27,5%.

2. Встановлена наявність хлорофілів у ліпофільних екстрактах методом тонкошарової хроматографії. Кількісний вміст хлорофілів у траві гринделії склав 0,03%, у кошиках — 0,02%; у ліпофільній фракції трави — 0,14%, кошиків — 0,07%.

3. Наявність каротиноїдів встановлена в обох ліпофільних фракціях. Вміст суми каротиноїдів у перерахунку на β-каротин склав: у траві гринделії — 1,32%, у кошиках — 1,45%; у ліпофільній фракції трави гринделії — 8,06%, кошиків — 4,78%. Встановлена наявність токоферолів у ліпофільних фракціях трави та кошиків гринделії розчепіреної.

4. Виявлена антимікробна активність ліпофільних фракцій трави та кошиків гринделії розчепіреної по відношенню до Staphylococcus aureus та Bacillus subtilis.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Гусакова С.Д. // Растит. ресурсы. — 1983. — Т. 19. — Вып. 4. — С. 444-445.*
2. *Гусакова С.Д., Сагдулаев Ш.Ш., Хушбакова З.А. // Химия природ. соед. — 1998. — №4. — С. 437-447.*
3. *Керимов Ю.Б., Алиев М.Н., Исмаилов Э.С. и др. Изучение некоторых растений, содержащих антрахиноны, кумарины и липофильные фракции. Реализ. науч. достиж. в практ. фармации: Тез. докл. респ. науч. конф., 16-18 окт., 1991. — Х., 1991. — С. 186-187.*
4. *Ковтун Ю.В. Розробка технології та дослідження фізико-хімічних властивостей ліпофільного екстракту обніжжя бджолиного. — Х., 1998. — 16 с.*
5. *Малый практикум по физиологии растений // Под. ред. М.В.Гусева. — М., 1982.*
6. *Попова О.И., Муравьева Д.А. // Фармация. — 1990. — №36. — С. 15-17.*
7. *Максютина Н.П., Комиссаренко Н.Ф., Прокопенко А.П. и др. Растительные средства. — К.: Здоров'я, 1985. — 280 с.*
8. *Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям. — Х.: Основа, 1993. — 438 с.*
9. *Callow J.M., Kantrud H.A., Higgins K.F. // Prairie Naturalist. — 1992. — 24 (2). — P. 57-64.*
10. *Gleason H.A., Cronquist A. Manual of vascular plants of northeastern United States and adjacent Canada. 2nd ed. — New York: New York Botanical Garden, 1991. — 910 p.*
11. *Goolf B., Lynton J., Segall B. Botanica. — Koenemann, 1999. — 1020 p.*
12. *Moerman D.E. Medicinal plants of Native America. — Ann. Arbor. — 1986. — Vol. 1. — P. 1-534; Vol. 2. — P. 535-910.*

УДК 615.322

ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ ГРИНДЕЛИИ РАСТОПЫРЕННОЙ

И.В.Ковалева-Загравская, В.Н.Ковалев, И.А.Журавель

Методом исчерпывающей экстракции хлороформом в аппарате Сокслета получены и исследованы липофильные фракции травы и цветков гринделии растопыренной. Определено количественное содержание липофильных фракций в растительном сырье. Установлено наличие хлорофиллов, каротиноидов и токоферолов в липофильных экстрактах с помощью качественных реакций и хроматографических методов. Определено количественное содержание хлорофиллов и суммы каротиноидов в пересчете на β-каротин в липофильных фракциях травы и цветков гринделии растопыренной. Установлена значительная антимикробная активность липофильных фракций травы и цветков гринделии растопыренной по отношению к Staphylococcus aureus и Bacillus subtilis.

UDC 615.322

RECEVING AND RESEARCHING OF LIPOPHILIUOS FRACTIONS OF GRINDELIA SQUARROSA

I.V.Kovaleva-Zagravskaya, V.N.Kovalev, I.A.Zhuravel

Lipophilous fractions of herb and flowers of grindelia squarrosa were received and researched by the method of exhaustive extraction with chlorophorm in Soxlet apparatus. We have determited quantitative content of lipophilious fractions in vegetable stuff. It has been establisted presence of chlorophylls, carotinoids and tokopherols in lipophilious extracts with the help of qualitative reactions and chromatographic methods. Quantitative content of chlorophylls and sum of carotinoids were determined in recalculation to β-carotine in lipophilious fractions of herb and flowers of grindelia squarrosa. We have found out significant antimicrobial activity of lipophilious fractions of herb and flowers of grindelia squarrosa regarding to Staphylococcus aureus and Bacillus subtilis.

Довідник "ВФ"

Вийшов з друку навчальний посібник
Подольська Є.А., Мелентьєва Т.М., Філіппова О.А., Погорілий Д.Є., Садовников В.В.

Соціологія. Навчальний посібник

Х.: Вид-во НФАУ, 2001, 276 с.

Посібник містить курс лекцій та практикум. У першій частині викладені базові знання про суспільство, об'єкт і метод соціологічної науки, її понятійно-категоріальний апарат. Дається характеристика основних світових і вітчизняних соціологічних шкіл, концепцій і напрямків. Розкрите уявлення про сутність соціального життя, соціальних відносин і процесів.

Практикум містить тестові завдання, питання для самостійної роботи, тематику рефератів, літературу і словник основних соціологічних термінів.

Навчальний посібник призначений для студентів вищих навчальних закладів.

Вийшов з друку практичний посібник
Тихонов О.І., Ярних Т.Г., Орловецька Н.Ф. та ін.
За ред. О.І.Тихонова / Пер. на англ. за ред. М.В.Любієвої

Практичний посібник до лабораторних занять з аптечної технології ліків

Х.: Вид-во НФАУ, 2001, 208 с.

У практичному посібнику відповідно до програми з аптечної технології ліків наведені основні теоретичні питання, необхідні для вивчення дисципліни, навчаючі завдання, зразки еталонів відповідей для виконання домашніх завдань, завдання для контролю засвоєння матеріалу. Для кращого засвоєння матеріалу основні теоретичні питання і практичні завдання наведені англійською мовою.