

Рекомендована д.ф.н., професором В.С.Кисличенко

УДК 615.322:547.915:665.325.3

ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ ТРАВИ ЛЯДВЕНЦЯ УКРАЇНСЬКОГО ТА ПОЛЬОВОГО

С.В.Ковалев

Національний фармацевтичний університет

Визначено кількісний вміст ліпофільних фракцій у рослинній сировині — траві лядвенця українського та польового, який склав 2,62% та 2,36% відповідно. У результаті проведеного хроматографічного аналізу і якісних реакцій встановлена наявність каротиноїдів та хлорофілів. Кількісний вміст каротиноїдів у траві лядвенця польового склав 245,97 мг/г, хлорофілів — 453,91 мг/г; у траві лядвенця українського вміст каротиноїдів склав 107,64 мг/г, хлорофілів — 199,44 мг/г. Визначено якісний склад та кількісний вміст 11 жирних кислот у траві лядвенця польового та 13 жирних кислот у траві лядвенця українського. У кількісному відношенні в обох видах сировини переважають пальмітинова, лінолева та ліноленова кислоти.

У світовій фармацевтичній промисловості кожен третій лікарський засіб виготовляється з лікарської рослинної сировини. Це зумовлено їх малою токсичністю і можливістю тривалого застосування без істотних побічних ефектів. У цьому зв'язку заслуговують на увагу рослини, які містять різні класи біологічно активних сполук, такі як флавоноїди, кумарини, сапоніни, гідроксикоричні кислоти, алкалоїди, амінокислоти тощо. Тому пошук перспективних рослин, що містять ці класи речовин, розробка методів їх виділення, створення на їх основі нових перспективних лікарських засобів є актуальним завданням сучасної фармації.

Необхідність комплексного використання рослин на наявність достатньої сировинної бази пояснює зацікавленість до вивчення дикорослих рослин флори України, тому об'єктом нашого дослідження був обраний рід лядвенець (*Lotus L.*) родини бобових (*Fabaceae*). Свою назву лядвенець отримав через те, що він часто зростає на землях, які раніше були під обробкою, а потім заросли лісом ("лядом"). Лядвенець з польської *Cedzucian* означає "вид гороху" [4, 6]. Існує версія, що назва походить від слова "лядвея" — через ниркоподібну форму плодів; зі словенської *Cedrice* перекладається як "нирки"; чеською *Cedrina* також означає "нирка" [2]. У культурі відомий з XIX століття [2]. У народній медицині лядвенець ви-

користовують при застудних і запальніх захворюваннях шкірних покривів, при подагрі, забиттях, розтягненнях зв'язок як болетамувальний засіб, а також при тривало незагойних ранах та виразках. Йому притаманна загальнозміцнююча та тонізуюча дія. Подрібнену свіжу траву прикладають у вигляді припарок до запалених набряклих ділянок для зменшення болю та розсмоктування набряків.

Метою нашої роботи є дослідження ліпофільних фракцій з трави лядвенця польового та лядвенця українського, збираної у фазу цвітіння в Івано-Франківській області.

Матеріали та методи

З трави лядвенця польового та лядвенця українського отримані ліпофільні фракції. Екстракцію проводили хлороформом в апараті Сокслета.

Визначення каротиноїдів і хлорофілів проводили методом тонкошарової хроматографії на пластинках "Silufol" в одномірному і двомірному варіантах у системах розчинників гексан-ацетон (6:2) — I напрямок, гексан-ацетон (6:4) — II напрямок. Схеми двомірної тонкошарової хроматографії хлороформного екстракту з трави лядвенця польового та лядвенця українського наведені на рис. 1-2 [1, 5, 13].

Визначення якісного та кількісного вмісту жирних кислот проводили методом газорідинної хроматографії (ГРХ) метилових ефірів жирних кислот на хроматографі з полум'яно-іонізаційним детектором "Shimadzu GC-14B".

Пробу для аналізу виділяли надлишком очищеного діетилсірчаного ефіру, після чого розчинник відганяли в струмі азоту для запобігання пероксидації ненасичених жирних кислот. Потім пробу піддавали негайній переетерифікації за модифікованою методикою Пейснера сумішшю хлороформ — метанол — концентрована сульфатна кислота (100:100:1) у запаяних ампулах протягом 3 год при 100°C. Після охолодження і розкриття ампул метилові ефіри жирних кислот витягували гексаном, а витяжки піддавали ГРХ. Визначення проводили при наступних умовах: колонка капілярна кварцова розміром 60 м × 0,32 мм, НР-23 0,25 мкм, стаціонарна фаза ціанопропіл — метилсилоксан (1:1), газ-носій — водень, швидкість газу-носія —

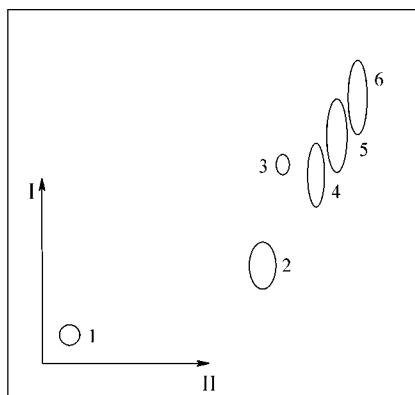


Рис. 1. Схема тонкошарової хроматограми ліпофільної фракції трави лядвенця українського.

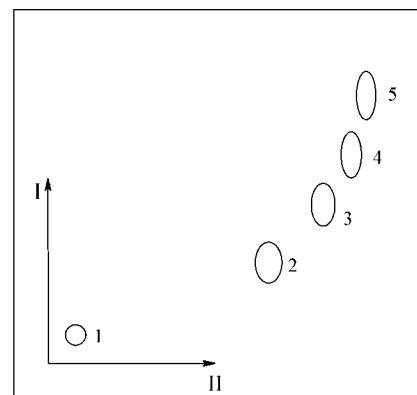


Рис. 2. Схема тонкошарової хроматограми ліпофільної фракції трави лядвенця польового.

Система розчинників. I напрямок: гексан-акетон (6:2); II напрямок: гексан-акетон (6:4).

1,0 мл/хв, температура колонки — 175°C, інжектора — 240°C, детектора — 250°C.

Ідентифікацію метилових ефірів здійснювали за часом утримання піків стандартною сумішшю. Вміст жирних кислот розраховували у відсотках від їх суми [4].

Результати та їх обговорення

Для одержання ліпофільної фракції 20,0 г по-дрібненої трави лядвенця вичерпно екстрагували хлороформом в апараті Сокслета. Отримані хлороформні екстракти упарювали до видалення екстрагента та зважували. Визначали відсотковий вміст ліпофільної фракції в сировині, який склав у траві лядвенця українського 2,62%, а у траві лядвенця польового — 2,36%.

З метою стандартизації отриманої ліпофільної фракції нами були вивчені органолептичні та деякі фізико-хімічні показники [3, 4].

Отриманий ліпофільний екстракт являє собою густу однорідну маслянисту масу темно-зеленого кольору, жирну на дотик зі специфічним, ароматичним, приємним запахом, своєрідного смаку, яка практично не розчиняється у воді, спирті, але добре розчиняється у хлороформі.

У результаті проведеного хроматографічного аналізу ліпофільних фракцій встановлена наяв-

ність каротиноїдів і хлорофілів. Схема ТШХ наведена на рис. 1-2.

Якісне визначення каротиноїдів на хроматограмах проводили за характерним живтим і живтогарячим забарвленням, а в УФ-світлі — за коричневою флюoresценцією плям. Для підтвердження наявності каротиноїдів хроматограми обробляли 2% розчином n-диметиламінобензальдегіду у суміші метанолу та хлористоводневої кислоти з наступним витримуванням хроматограм у сушильній шафі при 100°C протягом 5 хв. Плями, які відповідали каротиноїдам, забарвлювались у рожевий колір.

Локалізацію хлорофілів визначали за характерною темно-зеленою флюoresценцією у видимому та в УФ-світлі. Дані наведені у табл. 1-2 [3, 4, 12].

У ліпофільній фракції трави лядвенця українського знайдено 6 речовин. Речовина 2 була віднесена нами до каротиноїдів, речовини 1, 3, 4-6 — до хлорофілів (табл. 1). У ліпофільній фракції трави лядвенця польового знайдено 5 речовин. Речовини 2, 3 були віднесені нами до каротиноїдів, речовини 1, 4, 5 — до хлорофілів (табл. 2).

Проведений також аналіз тримірних спектрів флуоресценції та їх проекції на площину збудження/випромінювання, представлених у логариф-

Таблиця 1

Результати хроматографічного аналізу хлорофілів та каротиноїдів ліпофільного екстракту трави лядвенця українського

Речовини	Забарвлення плям		
	у видимому світлі	в УФ-світлі	після обробки n-диметиламінобензальдегідом
1	Темно-зелене	Червоне	—
2	Жовте	Коричневе	Рожево-фіолетове
3	Темно-зелене	Червоне	—
4	Темно-зелене	Червоне	—
5	Темно-зелене	Червоне	—
6	Темно-зелене	Червоне	—

Таблиця 2

Результати хроматографічного аналізу хлорофілів та каротиноїдів ліпофільного екстракту трави лядвенця польового

Речовини	Забарвлення плям		
	у видимому світлі	в УФ-світлі	після обробки n-диметиламінобензальдегідом
1	Темно-зелене	Червоне	—
2	Жовте	Коричневе	Рожево-фіолетове
3	Жовте	Коричневе	Рожево-фіолетове
4	Темно-зелене	Червоне	—
5	Темно-зелене	Червоне	—

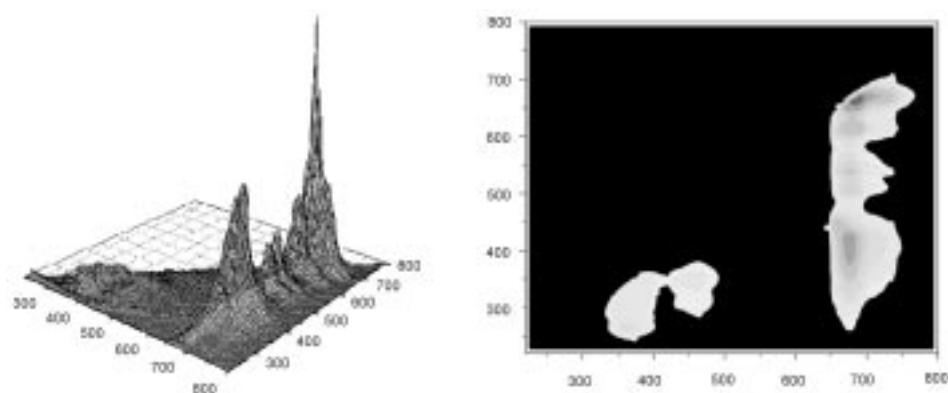


Рис. 3. Тривимірний спектр флуоресценції хлороформного екстракту трави лядвенця українського.

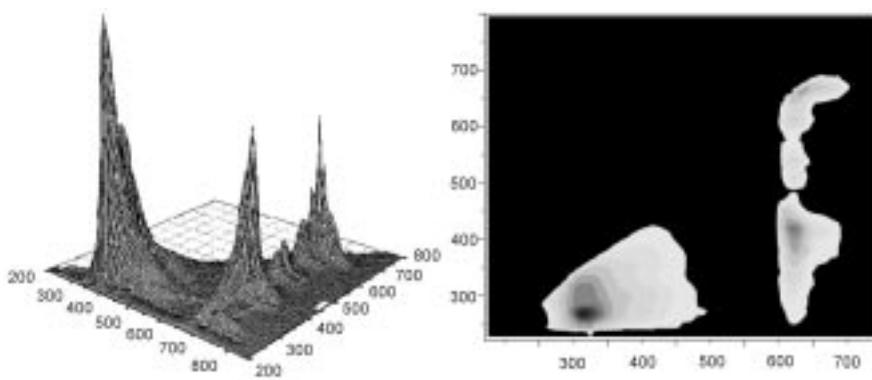


Рис. 4. Тривимірний спектр флуоресценції хлороформного екстракту трави лядвенця польового.

мічних шкалах інтенсивності (рис. 3-4), який сприяв більш детальному визначенням якісного складу досліджуваного об'єкту. Піки в областях збудження — 280-450, 480-530, 600-700 нм та випромінювання 650-750 нм — це область флуоресценції хлорофілів.

Кількісний вміст каротиноїдів та хлорофілів у ліпофільних фракціях трави лядвенця польового та лядвенця українського наведений у табл. 3 [3, 4, 9].

Під час аналізу жирнокислотного складу у ліпофільних фракціях з трави лядвенця польового виявлено 11 жирних кислот, у траві лядвенця українського — 13 (табл. 4, рис. 5-6).

Під час аналізу жирнокислотного складу з трави лядвенця польового встановлено, що у кількісному відношенні переважають насычені пальмітинова (22,695%) та лінолева (19,159%) жирні кислоти. У траві лядвенця українського кількісно переважають пальмітинова (20,450) та лінолева

Таблиця 3

Кількісний вміст каротиноїдів та хлорофілів у ліпофільних фракціях трави лядвенця польового та лядвенця українського

Клас речовин	Вміст, мг/г	
	Лядвенець польовий	Лядвенець український
Каротиноїди	107,64	245,97
Хлорофіли	199,44	453,91

Таблиця 4

Результати якісного та кількісного визначення жирних кислот у ліпофільних фракціях з трави лядвенця польового та українського

Кислота	Вміст, %	
	Лядвенець польовий	Лядвенець український
Міристинова	—	1,730
Міристоолеїнова	—	3,826
Пальмітинова	22,695	20,450
Пальмітоолеїнова	1,526	1,599
Гексадекаолеїнова	0,388	—
Стеаринова	3,398	2,946
Олеїнова	2,634	2,222
Вакценова	0,647	—
Лінолева	19,159	16,361
Ліноолеїнова	0,405	—
Ліноленова	0,363	32,101
Арахідонова	4,019	4,695
Ейкозанова	0,779	—
Бегенова	—	1,167
Ерукова	—	1,769
Лігноцеринова	—	1,221
Церотова	—	1,191
Сума насыщених кислот	29,045	30,349
Сума ненасыщених кислот	26,968	60,974

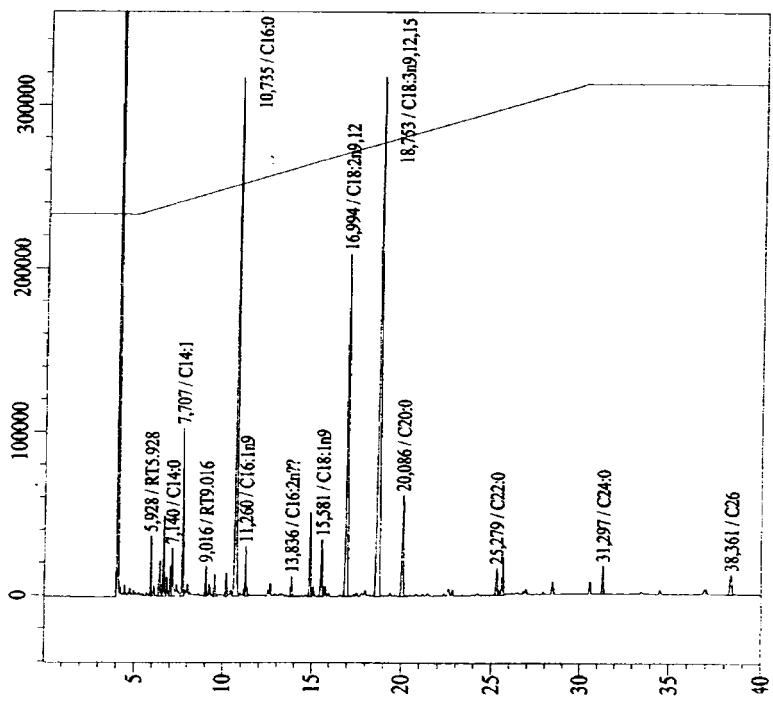


Рис. 5. Схема газорідинної хроматографії ліпофільної фракції трави лядвенця українського.

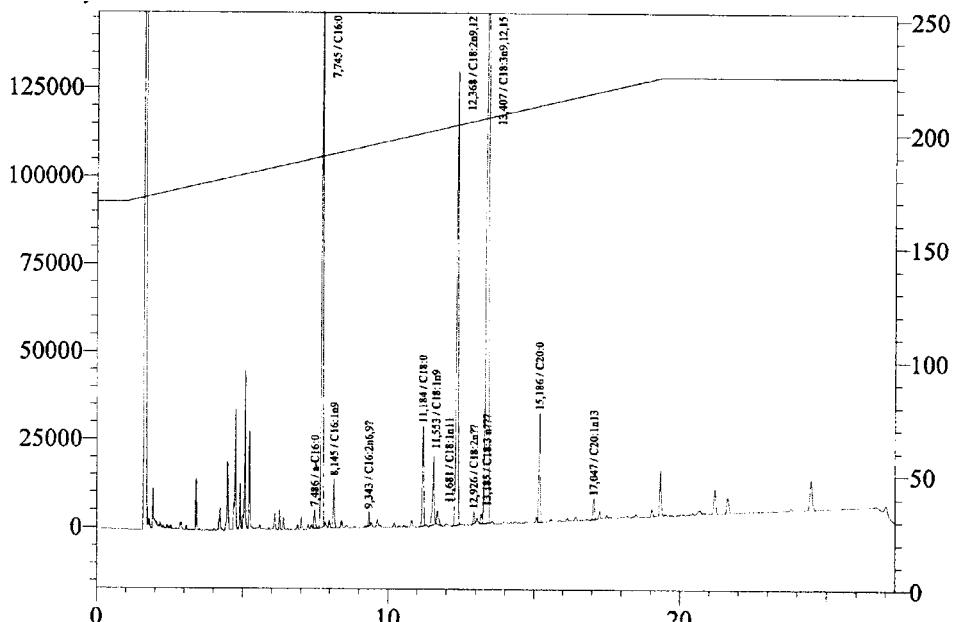


Рис. 6. Схема газорідинної хроматографії ліпофільної фракції трави лядвенця польового.

(16,361%) жирні кислоти (насичені), а також ненасичена ліноленова (32,101%) кислота [7-10].

ВИСНОВКИ

1. Отримано ліпофільні фракції з трави лядвенця українського та лядвенця польового. Кількісний вміст склав для трави лядвенця українського — 2,62%, для лядвенця польового — 2,36%.

2. Встановлено наявність каротиноїдів та хлорофілів. Визначено кількісний вміст каротиноїдів — 107,64 мг/г (лядвенець польовий), 245,97 мг/г (лядвенець український); кількісний вміст хлорофілів —

199,44 мг/г (лядвенець польовий), 453,91 мг/г (лядвенець український).

3. У жирній олії трави лядвенця польового виявлено 11 жирних кислот; у жирній олії трави лядвенця українського — 13 жирних кислот. У кількісному відношенні у траві лядвенця польового переважають насичені: пальмітинова (22,695%) та лінолева (19,159%) жирні кислоти; у траві лядвенця українського — насичені пальмітинова (20,450) та лінолева (16,361%) жирні кислоти, а також ненасичена ліноленова (32,101%) кислота.

ЛІТЕРАТУРА

1. Берестова С.І., Ковалев В.М., Ковалев С.В., Комісаренко А.М. // Вісник фармації. — 2006. — №1 (45). — С. 22-25.
2. Головкін Б.Н. Культигенный ареал растений. — М.: Наука, 1988. — 184 с.
3. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1987. — 335 с.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
5. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам: В 2-х ч. / Под ред. О.Микеша. — М.: Мир, 1982. — 781 с.
6. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: Руковод. для врачей. — М: Мед. информ. агентство, 2000. — 976 с.
7. Akoh C.C., Min D.B. Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology, 2-nd ed. — New York-Basel: Marcel Dekker, 2002. — 1014 p.
8. Ching K. Chow. Fatty Acids in Foods and their Health Implications. 3-rd ed. — Boca Raton, London, New York: CRC Press, 2007. — 1296 p.
9. European Pharmacopoeia, 4-th ed. — Strasbourg, 2001. — 2416 p.
10. Gunstone F.D., Harwood J.L., Dijkstra A.J. The Lipid Handbook with CD-ROM, 3 ed. — Boca Raton, London, New York: CRC Press, 2007. — 808 p.
11. Mostovsky D.I., Yehuda Sh., Salem N. Fatty acids: physiological and behavioral functions. — Totowa, New Jersey: Humana Press, 2001. — 462 p.
12. Wagner H., Bladt S. Plant drug analysis. — Berlin: Springer, 2001. — 384 p.
13. Waksmanzka-Hajnos M., Sherma J., Kowalska T. Thin Layer Chromatography in Phytochemistry. — Boca Raton, London, New York: CRC Press, 2008. — 888 p.

УДК 615.322:547.915:665.325.3

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ ТРАВЫ
ЛЯДВЕНЦА УКРАИНСКОГО И ПОЛЕВОГО

С.В.Ковалев

Определено количественное содержание липофильных фракций в растительном сырье — траве лядвенца украинского и полевого, которое составило 2,62% и 2,36% соответственно. В результате проведенного хроматографического анализа и качественных реакций установлено наличие каротиноидов и хлорофиллов. Количественное содержание каротиноидов в траве лядвенца полевого составило 245,97 мг/г, хлорофиллов — 453,91 мг/г, в траве лядвенца украинского содержание каротиноидов составило 107,64 мг/г, хлорофиллов — 199,44 мг/г. Определен качественный состав и количественное содержание 11 жирных кислот в траве лядвенца полевого и 13 жирных кислот в траве лядвенца украинского. В количественном отношении в обоих видах сырья преобладают пальмитиновая, линолевая и линоленовая кислоты.

UDC 615.322:547.915:665.325.3

INVESTIGATION OF LIPOPHILIC FRACTIONS FROM
LOTUS UCRAINICUS AND LOTUS ARVENSIS HERB
S.V.Kovalyov

The quantitative content of lipophilic fractions in the plant raw material has been determined and it was 2.62% for *Lotus ucrainicus* and 2.36% for *Lotus arvensis*, respectively. The qualitative tests and chromatographic analysis demonstrated the presence of carotenoids and chlorophylls in both species. The quantitative content of carotenoids is 245.97 mg/g, chlorophylls — 453.91 mg/g in *Lotus arvensis* and 107.64 mg/g and 199.44 mg/g in *Lotus ucrainicus*, respectively. The qualitative composition and quantitative content of 11 fatty acids in *Lotus arvensis* and 13 fatty acids in *Lotus ucrainicus* have been determined. Palmitic, linoleic and linolenic acids prevail in both species.