

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

УДК 582.579.2:581.43:577.115.3

## ХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ЛІПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ З КОРЕНЕВИЩ ПІВНИКІВ БОЛОТЯНИХ

О.О. Затильнікова, С.В. Ковалев, Т.П. Осолодченко

Національний фармацевтичний університет  
ДУ “Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України”

**Представлені результати вивчення ліпофільної фракції з кореневища півників болотяних (*Iris pseudacorus L.*). Визначено кількісний вміст ліпофільної фракції в рослинній сировині, який склав  $1,07 \pm 0,02\%$ . У результаті проведеного хроматографічного аналізу встановлена наявність каротиноїдів, токоферолів і хлорофілів. Кількісний вміст каротиноїдів склав  $0,035 \pm 0,001\%$ , хлорофілів —  $0,059 \pm 0,001\%$ . Визначено жирно-кислотний склад кореневищ. Встановлено анти-мікробну активність відносно грампозитивних мікроорганізмів.**

У теперішній час актуальним є пошук рослин з достатньою сировинною базою, які можуть використовуватися як джерело біологічно активних речовин для отримання на їх основі ліків.

Однією з таких рослин є півники болотяні — *Iris pseudacorus L.*, які добре розповсюджені по всій території України. Значні запаси сировини можна заготовляти у Харківській, Полтавській, Сумській, Рівненській, Житомирській, Донецькій та Волинській областях [3, 6].

У народній медицині використовують кореневища півників у вигляді відвару як відхаркувальний, жарознижуючий та заспокійливий засіб, при хрипоті, сухому кашлі, при болях у шлунку та кишечнику, при лікуванні дерматиту, гемороїдальних шишок [4, 6]. Також кореневища півників входять до складу збору Здренка для лікування папіломатозу сечового міхура, антацидного гаструту та виразкової хвороби шлунка [6, 8].

Лікувальні властивості півників болотяних зумовлені вмістом різних біологічно активних компонентів — ізофлавонового глікозиду іридину [8, 9], дубильних речовин, органічних кислот (шикімової, хінної, яблучної, лимонної, фумарової [13]), жирної олії, крохмалю та ефірної олії [4, 9, 12]. Ліпофільні речовини з кореневища півників болотяних практично не досліджені.

Токофероли та каротиноїди використовуються як антиоксидантні речовини, каротиноїди мають також мембрanoстабілізуючі властивості та А-про-

вітамінну активність. Хлорофіли виявляють анти-мікробну активність та стимулюють кровотворення [1, 5, 15].

Метою нашої роботи стало отримання ліпофільної фракції з кореневищ півників болотяних та дослідження її хімічного складу.

### Експериментальна частина

Одержані ліпофільні фракцію з кореневищ півників болотяних. Екстракцію проводили в апараті Сокслета.

Визначення каротиноїдів та хлорофілів проводили методом тонкошарової хроматографії на пластинках “Silufol” у системах розчинників гексан-ацетон (6:8) — I напрямок, гексан-ацетон (6:4) — II напрямок. Схема тонкошарової хроматограмми (ТШХ) хлороформного екстракту з кореневищ півників болотяних наведена на рис. 1.

Кількісне визначення каротиноїдів та хлорофілів проводили спектрофотометричним методом. Для цього брали 0,05 г (т.н.) ліпофільного екстракту та розчиняли його в 50 мл хлороформу; оптичну густину отриманого розчину визначали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 450 нм (каротиноїди) та 670 (хлорофіл) нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був хлороформ.

Кількісний вміст у % суми каротиноїдів (хлорофілів) в перерахунку на  $\beta$ -каротин (хлорофіл А) розраховували за формулою:

$$C = \frac{10 \cdot A \cdot 50 \cdot 100}{A_{1cm}^{1\%} \cdot m},$$

де: 10 — вміст каротину (хлорофілу) в 1 мл 1% розчину, мг;

A — оптична густина досліджуваного розчину;

m — маса наважки, г;

$A_{1cm}^{1\%}$  — екстинція  $\beta$ -каротину, 2400 (екстинція хлорофілу — 944,5).

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”.

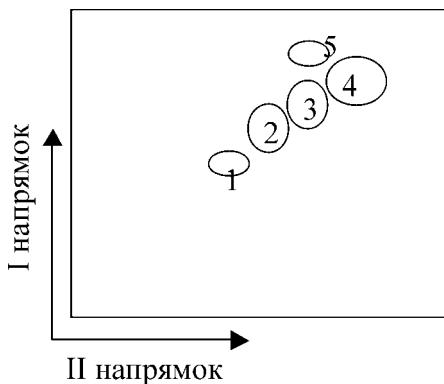


Рис. 1. Схема тонкошарової хроматограми ліпофільного екстракту з кореневищ півників болотяних. Схема розчинників: I напрямок — гексан-ацетон (6:8); II напрямок — гексан-ацетон (6:4).

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 по модифікованій методиці Пейськера сумішшю хлороформ — метанол — концентрована сульфатна кислота (100:100:1) в запаяніх ампулах протягом 3 год при 100°C. Після охолодження і розкриття ампул метилові ефіри жирних кислот витягували гексаном, а витяжки піддавали ГРХ при наступних умовах: газ-носій — водень; швидкість газу-носія — 1,0 мл/хв; температура інжектора — 240°C; температура детектора — 250°C; температура колонки — 175°C; колонка капілярна кварцева розміром 60 м×0,32 мм, твердофазний носій — “НР-23” із зернінням 0,25 мкм, стаціонарна фаза ціанопропіл — метилсилоксан (1:1). Ідентифікацію метилових ефірів здійснювали за часом утримання піків стандартною сумішшю. Вміст жирних кислот розраховували у відсотках від їх суми (табл. 2).

Також нами було проведено дослідження антимікробної дії ліпофільної фракції. Для цього використовувався метод дифузії в агар з використанням наступних тест-мікроорганізмів: *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 27853, *B.subtilis* ATCC 6633, *C.ablicans* ATCC 885/653.

#### Результати та їх обговорення

Для отримання ліпофільної фракції 25,0 г погрібнених кореневищ півників болотяних вичерпно екстрагували хлороформом в апараті Сокслета. Отримані хлороформні екстракти упарювали до видалення екстрагента та зважували. Визначали

Таблиця 1

Кількісний вміст каротиноїдів та хлорофілів у ліпофільній фракції з кореневищ півників болотяних

Числові показники	Вміст, %
Каротиноїди	0,035±0,001
Хлорофіли	0,059±0,001

відсотковий вміст ліпофільної фракції у сировині, який склав 1,07±0,02%.

З метою стандартизації отриманої ліпофільної фракції були вивчені органолептичні показники. Отриманий ліпофільний екстракт являє собою густу однорідну маслянисту масу темно-коричневого кольору зі специфічним запахом, яка не розчиняється у воді, спирті і добре розчинна у хлороформі.

Внаслідок проведеного хроматографічного аналізу ліпофільної фракції встановлено наявність хлорофілів, каротиноїдів та токоферолів. Схема ТШХ наведена на рис. 1.

Каротиноїди на хроматограмах визначали у видимому світлі за жовтим забарвленням, а в УФ-світлі — за коричневою флюoresценцією плям. Для підтвердження наявності каротиноїдів хроматограми обробляли 2% розчином п-диметиламіnobензальдегіду у суміші етанолу та хлористоводневої кислоти з наступним витримуванням хроматограм у сушильній шафі при 90°C протягом 5 хв. Плями, які відповідали каротиноїдам, забарвлювалися в рожево-фіолетовий колір.

Локалізацію хлорофілів на хроматограмі визначали за характерним темно-зеленим забарвленням у видимому світлі, а в УФ-світлі — за яскраво-червоною флюoresценцією. Токофероли мали блакитну флюoresценцію в УФ-світлі та характерне синьо-фіолетове забарвлення плям на хроматограмі при обробці парами йоду [2].

У ліпофільній фракції знайдено 4 речовини. Речовини 1-2 були віднесені нами до каротиноїдів, 3, 5 — до токоферолів, 4 — до хлорофілів.

Кількісний вміст каротиноїдів у ліпофільній фракції з кореневищ півників болотяних склав 0,035±0,001%; хлорофілів — 0,059±0,001% (табл. 1).

Таблиця 2

Кількісний вміст жирних кислот кореневищ півників болотяних

Назва кислоти	Вміст, %
Міристинова	0,34
Міристоолеїнова	46,60
Пальмітоолеїнова	0,26
Маргаринова	4,20
Стеаринова	5,51
Олеїнова	2,07
Лінолева	28,91
Лінolenова	4,73
Гондолієва	0,22
Ерукова	0,25
Лігноцеринова	1,15
Сума насычених кислот	16,01
Сума ненасичених кислот	78,05

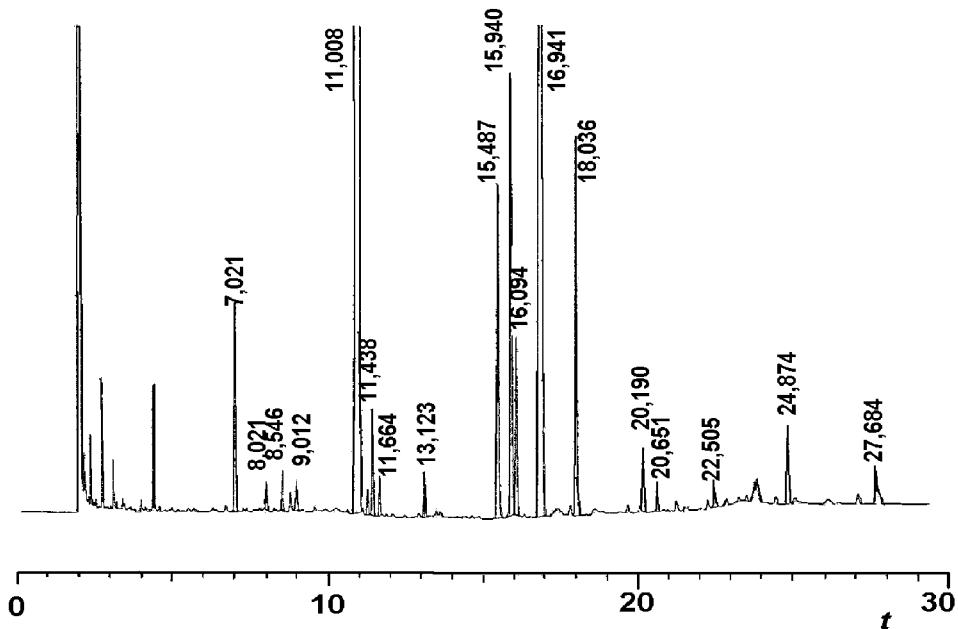


Рис. 2. Схема газорідинної хроматограми ліпофільного екстракту з кореневищ півників болотяних.

Таблиця 3

Результати визначення чутливості мікроорганізмів до ліпофільної фракції з кореневищ півників болотяних методом дифузії в агар

Ліпофільна фракція з кореневищ півників болотяних					
Діаметр зони затримки росту (мм)					
S.aureus	E.coli	P.aeruginoza	Pr. Vulgaris	B.subtilis	C.ablicans
14	14	12	13	15	11

Під час аналізу жирнокислотного складу в ліпофільній фракції кореневищ півників болотяних виявлено 19 жирних кислот, з яких 12 ідентифіковано. Значну кількість складають міристино-олеїнова (46,60%), лінолева (28,91%), маргаринова (4,20%), ліноленова (4,73%) кислоти (рис. 2, табл. 2).

Результати проведених мікробіологічних досліджень показали, що досліджений зразок — ліпофільна фракція з кореневищ півників болотяних має слабку антимікробну активність стосовно мікроорганізмів. Чутливими до ліпофільної фракції кореневищ півників є *B.subtilis* та *S.aureus*, зона затримки росту перебільшує 14 мм; майже нечутливими є *C.ablicans*, зона затримки росту — 11 мм (табл. 3).

## ВИСНОВКИ

1. Отримано ліпофільну фракцію з кореневищ півників болотяних. Кількісний вміст ліпофільної фракції склав  $1,07 \pm 0,02\%$ .
2. Встановлено наявність хлорофілів, каротиноїдів, токоферолів. Визначено кількісний вміст каротиноїдів —  $0,035 \pm 0,001\%$ ; хлорофілів —  $0,059 \pm 0,001\%$ .
3. У ліпофільній фракції з кореневищ півників болотяних виявлено 12 жирних кислот. Найбільший вміст мають: пальмітоолеїнова (46,60%), лінолева (28,91%), маргаринова (4,20%), ліноленова (4,73%) кислоти.
4. Визначено антимікробну активність ліпофільної фракції відносно грампозитивних мікроорганізмів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Гусакова С.Д., Сагдулаев Ш.Ш., Хушбакова З.А. и др. // Химия природ. соед. — 1998. — №4. — С. 437-447.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РІПЕГ, 2001. — 556 с.
3. Іриси // Квіти України. — 2000. — №9. — 52 с.
4. Кьюсов Т.А. Полный справочник лекарственных растений. — М.: Эксмо-пресс, 2001. — 992 с.
5. Никитюк В.Г. // Провизор. — 1999. — №6. — С. 88-84.

6. Носаль Іван. *Від рослини — до людини. Розповіді про лікувальні та лікарські рослини України.* — К.: Веселка, 1992. — С. 258-260.
7. Родионенко Г.И. // Ботан. журн. — 2003. — №5. — С. 133-138.
8. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: цветковые растения, их химический состав, использование: семейства Butomaceae-Turphaceae. — С.Пб.: Наука, 1994. — 271 с.
9. Чекман І.С. *Клінічна фітомедична терапія.* — К.: Вид-во А.С.К., 2003. — 550 с.
10. Christine A.W., Jeffrey B.H., Maretta C. // Biochem. Systematic and Ecol. — 1997. — Vol. 25, №4. — P. 309-325.
11. Francoise B.V., Christine I.T., Bonfils J.P., Yves S. // Phytochemistry. — 2003. — Vol. 62, №5. — P. 747-751.
12. Ilkay O., Bilge S. // Fitoterapia. — 2002. — Vol. 73, №4. — P. 316-319.
13. Henshaw G.G., Coulth D.A. // Nature. — 1962. — Vol. 194. — P. 579-580.
14. Sutherland W., Walton D. // Functional Ecol. — 1990. — №4 (5). — P. 655-660.
15. Vladimirov Yu. A. *Natural antioxidants / Ed. L.Parker.* — New York, 1996. — P. 125-241.

УДК 582.579.2:581.43:577.115.3

**ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОФИЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ИЗ КОРНЕВИЩ ИРИСА БОЛОТНОГО**

О.А.Затыльникова, С.В.Ковалев, Т.П.Осолодченко

Представлены результаты изучения липофильной фракции из корневищ ириса болотного (*Iris pseudacorus L.*). Определено количественное содержание липофильной фракции в растительном сырье, которое составило  $1,07 \pm 0,02\%$ . В результате проведенного хроматографического анализа установлено наличие каротиноидов, токоферолов и хлорофиллов. Количественное содержание каротиноидов составило  $0,035 \pm 0,001\%$ , хлорофиллов —  $0,059 \pm 0,001\%$ . Определен жирнокислотный состав корневищ. Установлена antimикробная активность относительно грампозитивных микроорганизмов.

UDC 582.579.2:581.43:577.115.3

**THE CHEMICAL STUDY OF THE LIPOPHILIC FRACTION FROM YELLOW IRIS RHIZOMES**

O.A.Zatylnikova, S.V.Kovalyov, T.P.Osolodchenko

The results of the study of the lypophilic fraction from yellow iris rhizomes (*Iris pseudacorus L.*) are given. The quantitative amount of the lypophilic fraction in the plant raw material has been determined, it was  $1,07\% \pm 0,02\%$ . The presence of carotenoids, tocopherols and chlorophylls has been proven as the result of the chromatographic analysis. The quantitative amount of carotenoids was  $0,035 \pm 0,001\%$  and chlorophylls —  $0,059 \pm 0,001\%$ . The rhizomes' composition of fatty acids has been determined. The antimicrobial activity as to gram-positive microorganisms has been found.