

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

УДК 615.322:633.31:547.915

ХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ТРАВИ ЛЮЦЕРНИ ПОСІВНОЇ

С.В. Ковалев

Національний фармацевтичний університет

Визначено кількісний вміст ліпофільної фракції в рослинній сировині, який склав 7,5%. У результаті проведеного хроматографічного аналізу і якісних реакцій встановлена наявність каротиноїдів і хлорофілів. Кількісний вміст каротиноїдів склав — 120,57 мг%, хлорофілів — 197,55 мг%. Визначено жирнокислотний склад 13 жирних кислот, з яких 6 віднесені до наасичених, 7 — до ненасичених. У кількісному відношенні переважають пальмітинова — 34,25%, лінолева — 15,11% та α -ліноленова — 17,93% кислоти.

У теперішній час приділяють велику увагу розробці та створенню лікарських засобів, до яких входять такі біологічно активні сполуки ліпофільної природи як хлорофіли, каротиноїди, жирні кислоти, що виявляють широкий спектр фармакологічної дії [9-11, 18-21, 23].

Об'єктом нашого дослідження була ліпофільна фракція з трави люцерни посівної. Люцерна посівна *Medicago sativa* L. родини бобових (Fabaceae) — родова назва створена від давньої латинської назви *medica* (*maedica*) — індійська конюшина, люцерна. Лікарська сировина: *Herba Medicaginis* — трава люцерни [4, 17]. До цього роду належить 21 вид багаторічних та 43 види однорічних рослин.

Найбільш поширені 3 види люцерни: люцерна посівна або синя (*M. sativa*), люцерна гібридна (*M. varia*), люцерна серпоподібна або жовта (*M. falcata*). Відома також люцерна хмелеподібна (*M. lupulina*) [7].

Трава люцерни містить фенольні сполуки: флавоноїди, ізофлавоноїди, куместрол; гідроксикоричні кислоти та ін. Завдяки наявності тритерпенових сапонінів люцерна сприяє зниженню рівня холестерину в крові, запобігає атеросклеротичним змінам стінок судин, ефективно знижує артеріальний тиск, виявляє протипухлинну дію, сприяє підвищенню імунітету, також регулює функцію гіпофізу. Люцерна багата на амінокислоти та вітаміни [2, 6, 9, 13]. Містить також хлорофіли, пектинові речовини, цукри, ліпіди [2, 6, 9].

Ліпофільні сполуки трави люцерни посівної вивчені недостатньо, тому є доцільним отримання

із сировини ліпофільної фракції з метою подальшого вивчення та комплексного використання сировини.

Матеріали та методи

З трави люцерни посівної отримали ліпофільну фракцію. 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. Схема двомірної тонкошарової хроматографії хлороформного екстракту з трави люцерни посівної наведена на рис. 1 [1, 5].

Кількісне визначення каротиноїдів та хлорофілів проводили спектрофотометричним методом, для чого брали 1,0 г (т.н.) ліпофільної фракції та розчиняли її в 50,0 мл гексану; оптичну густину отриманого розчину визначали на спектрофотометрі СФ-46 в діапазоні хвиль 350-700 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був гексан. Схема спектрограми наведена на рис. 2.

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

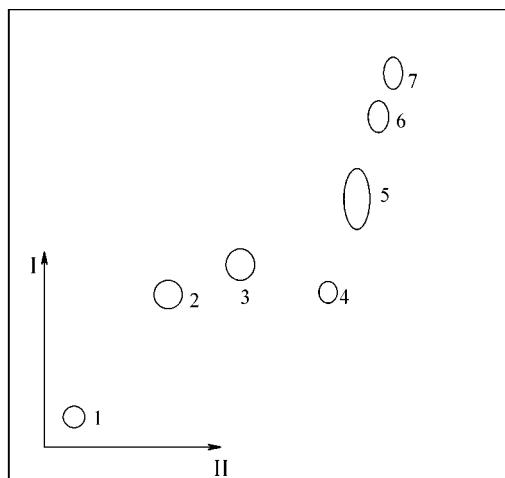


Рис. 1. Схема тонкошарової хроматограми ліпофільної фракції трави люцерни посівної. Система розчинників: I напрямок гексан-акетон (6:2); II напрямок гексан-акетон (6:4).

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 подрібненої трави люцерни посівної вичерпно екстрагували хлороформом в апараті Сокслета. Отриманий хлороформний екстракт упарювали до видалення екстрагенту та зважували. Визначали відсотковий вміст ліпофільної фракції в сировині, який склав 7,5%.

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, добре розчиняється у хлороформі.

Таблиця 1
Результати хроматографічного аналізу токоферолів та каротиноїдів ліпофільного екстракту трави люцерни посівної

Речовини	Забарвлення плям		
	у видимому світлі	в УФ-світлі	після обробки п-диметиламінобензальдегідом
1	жовте	коричневе	рожеве
2	жовтогаряче	коричневе	рожеве
3	жовтогаряче	коричневе	рожеве
4	жовте	жовте	рожеве
5	жовтогаряче	коричневе	рожеве
6	темно-зелене	темно-зелене	—
7	темно-зелене	темно-зелене	—

У результаті проведеного хроматографічного аналізу ліпофільної фракції встановлена наявність каротиноїдів і токоферолів. Схема ТШХ наведена на рис. 1.

Якісне визначення каротиноїдів на хроматограмах проводили за характерним жовтим і жовтогарячим забарвленням, а в УФ-світлі — за коричневою флюoresценцією плям. Для підтвердження наявності каротиноїдів хроматограмами обробляли 2% розчином п-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 токоферолів визначали за характерною темно-зеленою флюoresценцією у видимому та в УФ-світлі. Дані наведені у табл. 1 [3, 4, 22].

У ліпофільній фракції знайдено 7 речовин. Речовини 1–5 були віднесені нами до каротиноїдів, речовини 6, 7 — до токоферолів (табл. 1).

За результатами спектрофотометричного аналізу ліпофільної фракції трави люцерни посівної

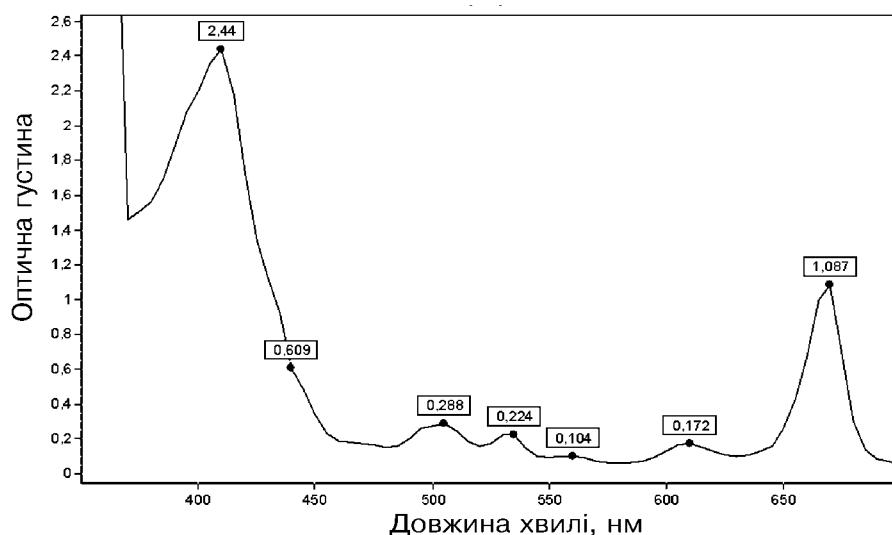
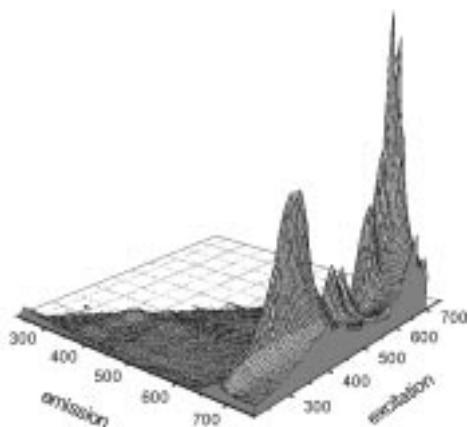


Рис. 2. Спектрограма ліпофільної фракції трави люцерни посівної.



(рис. 2) у діапазоні хвиль 650-700 нм був отриманий пік, характерний для хлорофілів.

Був проведений аналіз тримірних спектрів флуоресценції та їх проекції на площину збудження/випромінювання, представлених у логарифмічних шкалах інтенсивності (рис. 3), який сприяв більш детальному визначенням якісного складу досліджуваного об'єкту. Піки в областях збудження 310-450, 500-550, 600-700 нм та випромінювання 650-750 нм — це область флуоресценції хлорофілів.

Кількісний вміст каротиноїдів у ліпофільній фракції трави люцерни посівної склав 120,57 мг%. Вміст хлорофілів склав 197,55 мг% (табл. 2) [3, 4, 15].

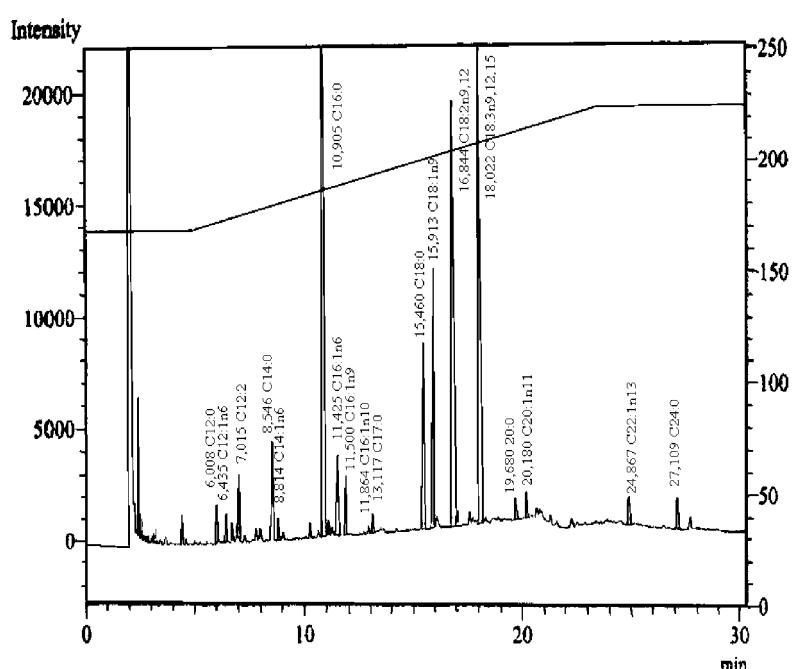
Під час аналізу жирнокислотного складу олії з трави люцерни посівної виявлено 13 жирних кислот, з яких 6 насичених: лауринова, стеаринова, міристинова, пальмітинова, пальмітоолеїнова, марсаринова і 7 ненасичених: олеїнова, лінолева, ліноленова, арахілонова, ерукова, гон-

Таблиця 2
Числові показники ліпофільної фракції трави люцерни посівної

Числові показники	Вміст біологічно активних речовин, числовий показник, мг%
Каротиноїди	120,57
Хлорофіли	197,55

Таблиця 3
Результати якісного та кількісного визначення жирних кислот у ліпофільній фракції трави люцерни посівної

Назва жирної кислоти	Кількісний вміст, %
Лауринова	0,98
Міристинова	2,69
Пальмітинова	34,25
Пальмітоолеїнова	2,62
Марсаринова	0,65
Стеаринова	6,24
Олеїнова	9,25
Лінолева	15,11
α-Ліноленова	17,93
Арахінова	0,81
Гондолева	1,03
Ерукова	1,161
Лігноцеринова	1,42
Сума насичених кислот	49,66
Сума ненасичених кислот	44,48



долева та ін. [12, 14, 16]. У кількісному відношенні переважають пальмітинова — 34,25%, лінолева — 15,11% та α -ліноленова — 17,93% (рис. 4, табл. 3).

ВИСНОВКИ

1. Отримано ліпофільну фракцію з трави люцерни посівної. Кількісний вміст ліпофільної фракції склав 7,5%.

2. Встановлено наявність каротиноїдів та токоферолів. Визначено кількісний вміст каротиноїдів — 120,57 мг% і хлорофілів — 197,55 мг%.

3. У жирній олії трави люцерни посівної виявлено 13 жирних кислот. У кількісному відношенні переважають пальмітинова — 34,25%, лінолева — 15,11% та α -ліноленова кислоти — 17,93 %.

ЛІТЕРАТУРА

1. Берестова С.І., Ковалев В.М., Ковалев С.В., Комісаренко А.М. // Вісник фармації. — 2006. — №1 (45). — С. 22-25.
2. Біологічна хімія: Підруч. / За ред. Л.М.Вороніної. — Х.: Основа, Вид-во НФаУ, 2000. — 608 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 частях. / Под ред. О.Микеша. — М.: Мир, 1982. — 781 с.
6. Лукманова К.А., Рябчук В.А., Салихова И.Х. // Фармация. — 2000. — Т. XLIX, №2. — С. 25-27.
7. Рибалко Я.М. // Насінництво. — 2006. — №9. — С. 7-10.
8. Светличная Е.И., Толок И.А. Этимологический словарь ботанических названий лекарственных растений: Учеб. пособ. — Х.: Изд-во НФаУ, 2003. — 286 с.
9. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: Руковод. для врачей. — М: Мед. информ. агентство, 2000. — 976 с.
10. Фармакогнозія з основами біохімії рослин: Підруч. для студентів / За ред. В.М.Ковальова. — Х.: Вид-во НФАУ; "Пропор", 2000. — 704 с.
11. Чуракова Г.В., Бондаренко А.Е., Крикова А.В., Івашев М.Н. // Вопр. біол., мед. и фармац. хімии. — 2005. — №1. — С. 54-56.
12. Akoh C.C., Min D.B. Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology, 2 ed. — New York-Basel: Marcel Dekker, 2002. — 1014 p.
13. Bunnell R.H. In: The Vitamins, 2-nd ed. — New York, 1967. — 200 p.
14. Ching K. Chow. Fatty Acids in Foods and their Health Implications. 3-rd ed. — Boca Raton, London, New York: CRC Press, 2007. — 1296 p.
15. European Pharmacopoeia, 4-th ed. — Strasbourg, 2001. — 2416 p.
16. 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.
17. Golf B., Lynton I., Segall B. Botanica. — Koenemann, 1999. — 1020 p.
18. Huong D.T., Luong D.V., Thao T.T.P., Sung T.V. // Die Pharmazie. — 2005. — Vol. 60, №8. — P. 627-629.
19. Livingston A.I.J. // Assoc. Offic. Anal. Chem. — 1986. — Vol. 69, №6. — P. 1017-1019.
20. Moerman D.E. // Ann. Arbor. — 1986. — Vol. 1. — P. 1-534; Vol. 2. — P. 535-910.
21. Vladimirov Yu.A. Natural Antioxidant / Ed. L.Parker. — New York, 1996. — P. 125-241.
22. Wagner H., Bladt S. Plant Drug Analysis. — Berlin: Springer, 2001. — 384 S.
23. Zemplen G., Bognar R. // Chem. Ber. — 1941. — №4. — S. 11,74.

УДК 615.322:633.31:547.915

ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОФИЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ТРАВЫ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ

С.В.Ковалев

Установлено количественное содержание липофильной фракции в растительном сырье, которое составило 7,5%. В результате проведенного хроматографического анализа и качественных реакций установлено наличие каротиноидов и хлорофиллов. Количественное содержание каротиноидов составляет 120,57 мг%, хлорофиллов — 197,55 мг%. Определен жирно-кислотный состав, представленный 13 жирными кислотами, из них 6 отнесены к насыщенным и 7 — к ненасыщенным. В количественном соотношении преобладают пальмитиновая — 34,25%, линолевая — 15,11% и α -линоленовая — 17,93% кислоты.

UDC 615.322:633.31:547.915

THE CHEMICAL ANALYSIS OF LIPOPHILIC FRACTION FROM MEDICAGO SATIVA HERB

S.V.Kovalyov

The quantitative amount of the lipophilic fraction in the raw material being 7,5% has been determined. The presence of carotenoids and chlorophylls has been found as the result of the paper chromatography and the qualitative reactions performed. The quantitative amount of carotenoids is 120,57 mg% and chlorophylls — 197,55 mg%. The composition of free fatty acids in the lipophilic fraction has been determined: 6 from 13 fatty acids belong to saturated acids and 7 — to unsaturated ones. The acids that predominate in their amount are palmitic — 34,25%, linoleic — 15,11% and α -linolenic — 17,93% acids.