

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

УДК 582.734.3:581.47:543.852:547.979.8:547.979.7:54.06

ХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ ПЛОДІВ ВИДІВ РОДУ *CRATAEGUS L.*

А.М.Ковальова, Н.В.Сидора

Національний фармацевтичний університет

Представлені результати дослідження ліпофільної фракції плодів 5 видів глодів: *S.canadensis*, *S.mollis*, *S.densiflora*, *S.submollis*, *S.flabellata*. Визначено кількісний вміст ліпофільних фракцій в рослинній сировині, який становить 0,57-9,02%. Хроматографічними методами в сировині ідентифіковано хлорофіли та каротиноїди. Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст каротиноїдів, який становить (мг%): *S.canadensis* — 9,8, *S.mollis* — 10,2, *S.densiflora* — 8,3, *S.submollis* — 11, *S.flabellata* — 9,5. Методом газової хроматографії визначено якісний склад та кількісний вміст вільних жирних кислот. У плодах ідентифіковано 11 жирних кислот.

За результатами фармакогностичного дослідження представників північноамериканських видів глодів у плодах виявлені гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, гідроксикумарини, вивчено їх якісний склад і кількісний вміст [2, 5]. Науковий інтерес представляє вивчення інших класів біологічно активних речовин цих об'єктів. З наукових робіт відомо, що плоди глодів містять ліпофільні речовини (жирні кислоти, хлорофіли, каротиноїди), проте ці дослідження носять епізодичний характер, ліпіди ряду глодів практично не досліджувались [1, 4, 6, 11].

Метою нашої роботи стала комплексна переробка сировини та розширення відомостей щодо хімічного складу ліпофільних сполук плодів глодів. Об'єктами дослідження стали ліпофільні фракції плодів 5 видів глодів північноамериканської групи, які широко культивуються: глоду канадського *S.canadensis* Sarg., глоду м'якого *S.mollis* (Torr.et Grey) Scheele, глоду густоквіткового *S.densiflora* Sarg., глоду м'якуватого *S.submollis* Sarg. та глоду віялоподібного *S.flabellata* (Bosc) C.Koch, які були заготовлені у Харкові та Харківській області [8].

Експериментальна частина

Для одержання ліпофільної фракції 10,0 г подрібнених плодів глодів поміщали у пакетик з фільтрувального паперу та брали наважку на аналітичних вагах. Екстракцію проводили хлорофор-

мом у апараті Сокслета на водяному нагрівнику до знебарвлення екстракту у зливному патрубку та негативної реакції на жир. Колбу-приймач зважували до та після екстракції. Щоб видалити пари екстрагенту, колбу висувували у сушильній шафі при температурі 60°C протягом 30 хв. Потім визначали відсотковий вміст ліпофільної фракції в сировині.

Дослідження жирнокислотного складу плодів. Для визначення якісного складу та кількісного вмісту жирних кислот використовували наважки 100 мг. Екстракцію кислот з проб проводили розчином Фолча (хлороформ-метанол 2:1) при нагріванні до 40°C протягом 5 хв. Потім проби центрифугували при 3-х тис. об./хв протягом 10 хв. Метилування жирних кислот проводили таким чином: з центрифужної пробірки відбирали хлороформний шар, переносили у реакційну пробірку об'ємом 25 мл, упарювали розчин досуха у струмі газоподібного азоту та температурі нагріву 60°C, додавали 5 мл 1% розчину сірчаної кислоти в метанолі, ставили пробірку на водяну баню на 30 хв при 80°C; пробірку охолоджували, додавали 3 мл дистильованої води та 5 мл суміші гексан-ефір у співвідношенні 1:1, перемішували та після відстоювання відбирали верхню фазу, переносили до центрифужної пробірки та упарювали розчин; упарений залишок розводили гексаном до 0,5-1 мл, відбирали 1 мкл для внесення до газового хроматографа.

Розділення та реєстрацію жирних кислот проводили на газовому хроматографі "Хром-5" на металевій колонці 2,6 м діаметром, заповненій сорбентом "Хроматон-супер" з 10% полідіетиленглікольсукцинатом. Аналіз проб вільних жирних кислот проводили в ізотермічному режимі при 195°C та нагріванні полум'яно-іонізаційного детектора до 250°C. Швидкість газу-носія азоту високої чистоти — 50 мл/хв, водня — 30 мл/хв, повітря — 300 мл/хв. Ідентифікацію вільних жирних кислот проводили шляхом порівняння часу їх виходу з відомими метиловими ефірами жирних кислот. Кількісний аналіз проводили методом абсолютної калібровки кожної жирної кислоти окремим, а також за їх сумішами з викреслюванням

Таблиця 1

Вихід ліпофільної фракції плодів глодів

Вид глоду	Маса наважки сировини, г	Маса ліпофільної фракції, г	Вихід ліпофільної фракції (на абсолютно суху сировину), %	Вихід ліпофільної фракції (з урахуванням вологості сировини), %
<i>C.canadensis</i>	20,7425	0,2400	1,16	1,34
<i>C.mollis</i>	21,5000	0,2800	1,3	1,55
<i>C.densiflora</i>	20,5991	0,1500	0,72	0,85
<i>C.submollis</i>	20,6046	1,6000	7,76	9,02
<i>C.flabellata</i>	20,4157	0,1000	0,49	0,57

калібровочних кривих, за якими і визначали концентрацію кожної жирної кислоти у пробі.

Якісне визначення хлорофілів та каротиноїдів. Для ідентифікації каротиноїдів та хлорофілів використовували одновимірну та двовимірну хроматографію у тонкому шарі сорбенту на пластинках "Silufol" у системах розчинників гексан-ацетон (6:4) — I напрямом, гексан-ацетон (6:3) — II напрямом.

Наявність каротиноїдів визначали за характерним жовтим та жовто-коричневим забарвленням плям та коричневою флуоресценцією в УФ-світлі. Як проявник використовували 2% розчин п-диметиламінобензальдегіду у суміші етанолу та кислоти хлористоводневої (реактив А). Плями, які відповідали каротиноїдам, мали рожево-фіолетовий колір [9, 10]. Каротиноїди проявляли також за допомогою 10% етанольного розчину фосфорномолібденової кислоти (реактив Б) та наступним нагріванням у сушильній шафі при 60-80°C протягом 5 хв. На жовто-зеленому фоні спостерігали сині плями каротиноїдів.

Хлорофіли на хроматограмі мали темно-зелене забарвлення в денному світлі та яскраво-червону флуоресценцію в УФ-світлі.

Кількісне визначення каротиноїдів. Для визначення кількісного вмісту каротиноїдів у ліпофільній фракції точну наважку ліпофільної фракції

($m=0,0185$ г) розчиняли у мірній колбі на 25 мл (V) у гексані. До 2 мл (V₁) одержаного розчину додавали 2 мл гексану, отримавши таким чином 4 мл (V₂) розчину. Оптичну густину визначали на спектрофотометрі СФ-46.

Результати та їх обговорення

Отримані ліпофільні фракції мають вигляд смолоподібних рідин жовто-коричневого (*C.densiflora*, *C.flabellata*) та жовто-зеленого (*C.canadensis*, *C.mollis*, *C.submollis*) кольору з характерним запахом, нерозчинних у воді та спирті, розчинних у хлороформі, гексані та етилацетаті.

Вихід ліпофільної фракції в перерахунку на абсолютно суху сировину розраховували за формулою:

$$X = \frac{m_{л.ф.} \cdot 100 \%}{m_n}$$

де: $m_{л.ф.}$ — маса ліпофільної фракції;

m_n — маса наважки сировини.

Результати визначення виходу ліпофільної фракції наведені у табл. 1.

Як видно з табл. 1, найбільший вихід ліпофільної фракції визначено для плодів *C.submollis* (9,02%), найменший — для плодів *C.flabellata* (0,57%).

За результатами флуоресценції забарвлення плям після обробки хромогенними реактивами та R_f речовини 6-8 віднесено до хлорофілів, речовини 1-5 та 9 — до каротиноїдів (табл. 2).

Таблиця 2

Результати хроматографічного аналізу хлорофілів та каротиноїдів

№ плями	Забарвлення до проявлення	Забарвлення після проявлення (реактив А)	Забарвлення після проявлення (реактив Б)	Значення R _f	
				I	II
1	Жовте	Рожево-фіолетове	Синє	0,05	0,07
2	Жовте	Рожево-фіолетове	Синє	0,19	0,22
3	Жовте	Рожево-фіолетове	Синє	0,21	0,23
4	Жовте	Рожево-фіолетове	Синє	0,25	0,27
5	Жовте	Рожево-фіолетове	Синє	0,35	0,39
6	Червоне	Синє	Темно-зелене	0,36	0,40
7	Червоне	Синє	Темно-зелене	0,40	0,42
8	Червоне	Синє	Темно-зелене	0,47	0,50
9	Жовте	Рожево-фіолетове	Синє	0,53	0,56

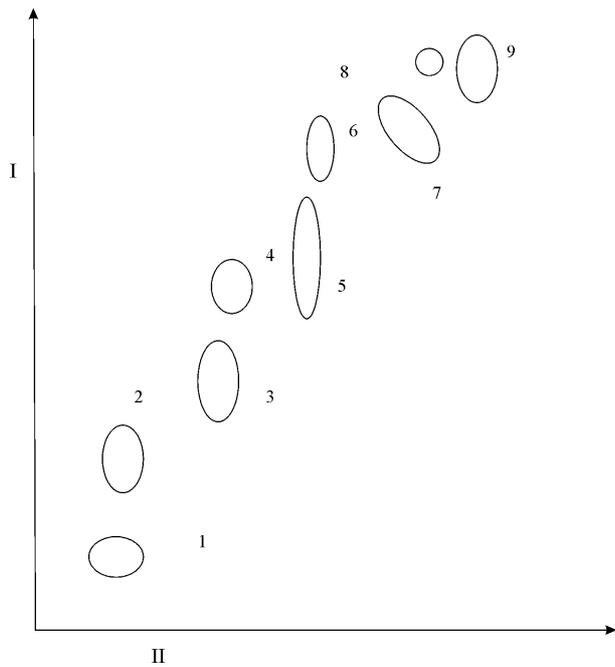


Рис. 1. Загальна схема двовимірної хроматограми хлорофілів та каротиноїдів у ліпофільній фракції плодів глодів.

У результаті хроматографічного аналізу в плодах досліджуваних глодів встановлені хлорофіли та каротиноїди. Схему тонкошарової хроматограми наведено на рис. 1.

За допомогою методу газової хроматографії визначено жирнокислотний склад плодів глодів.

Схему газової хроматограми жирних кислот наведено на рис. 2. Результати визначення жирних кислот наведені у табл. 3.

Як видно з табл. 3, жирнокислотний склад плодів досліджуваних глодів неоднорідний. Так, у плодах *S.canadensis* знайдено 11 жирних кислот; *S.mollis* та *S.submollis* — 8; *S.densiflora* — 7; *S.flabellata* — 9. У досліджуваних видах загалом ідентифіковано 11 жирних кислот, з яких 2 (лінолева та ліноленова) є незамінними та входять до складу комплексу вітаміну F [5, 7]. Домінуючими в усіх видах (мкг/100 мг) є пальмітинова (182,5-1735), олеїнова (625-6667), стеаринова (20-667) та лінолева (960-24000) кислоти. Деканову та лауринову кислоти знайдено у г.канадського; тридеканову — у г.канадського та г.м'якого; пентадеканову — у г.канадського та г.віялоподібного; гептодецинову — у г.канадського та г.м'якого.

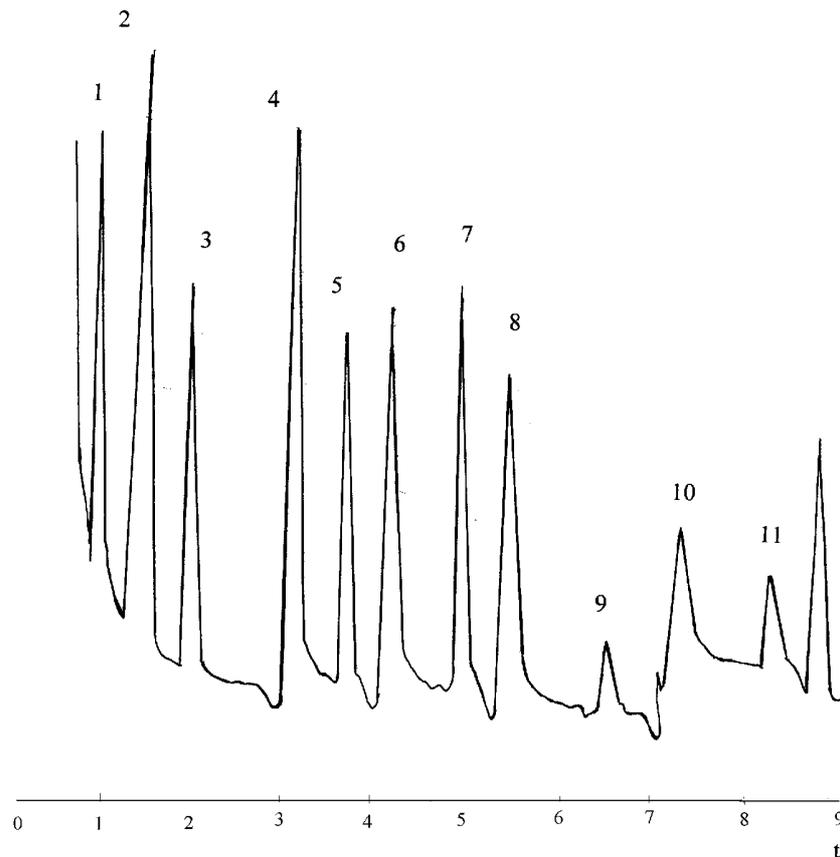


Рис. 2. Загальна схема газової хроматограми жирних кислот плодів глодів.
Примітка: 1 — деканова, 2 — лауринова, 3 — тридеканова, 4 — берестинова, 5 — пентадеканова, 6 — пальмітинова, 7 — гептодецинова, 8 — стеаринова, 9 — олеїнова, 10 — лінолева, 11 — ліноленова кислоти.

Таблиця 3

Жирнокислотний склад ліпофільної фракції плодів глодів

№ п/п	Назва кислоти	Загальна формула	Вид глоду, мкг/100мг				
			C.canadensis	C.mollis	C.densiflora	C.submollis	C.flabellata
1	Деканова	C ₁₀ :0	2,5	—	—	—	—
2	Лауринова	C ₁₂ :0	5,0	—	—	—	—
3	Тридеканова	C ₁₃ :0	6,25	9,0	—	—	сл.
4	Берестинова	C ₁₄ :0	25	80	120	270	50
5	Пентадеканова	C ₁₅ :0	5	—	—	—	40
6	Пальмітинова	C ₁₆ :0	182,5	1160	1080	1735	500
7	Гептодецинова	C ₁₆ :1	20	100	сл.	сл.	сл.
8	Стеаринова	C ₁₈ :0	75	240	360	667	20
9	Олеїнова	C ₁₈ :1	625	2300	3780	6667	2200
10	Лінолева	C ₁₈ :2	960	6600	9300	24000	5600
11	Ліноленова	C ₁₈ :3	45	120	сл.	сл.	140
Сума ненасичених кислот			1650,0	9120	13080	30667	7940
Сума насичених кислот			301,25	1489	1560	2672	610

Для встановлення вмісту каротиноїдів показники оптичної густини визначали на приладі СФ-46. Для C.canadensis він складає 0,939, для C.mollis — 0,978, для C.densiflora — 0,796, для C.submollis — 1,054, для C.flabellata — 0,911. Екстинція E^{1%}_{1см}

для суми каротиноїдів у гексані при довжині хвилі 453 нм приймається рівною 2592.

Вміст суми каротиноїдів визначали за формулою:

$$X = \frac{10 \cdot D \cdot V \cdot V_2}{E_{1cm}^{1\%} \cdot V_1 \cdot a}$$

Таблиця 4

Метрологічна характеристика визначення каротиноїдів плодів

n	f	X _i	\bar{X}	S ²	\bar{S}	P	t (P, n)	Довірчий інтервал	±ε, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C.canadensis									
5	4	9,3125	9,6669	0,0639	0,113	0,95	2,78	9,6669 ± 0,3143	3,25
		9,5020							
		9,7535							
		9,8540							
		9,9125							
C.mollis									
5	4	9,7630	9,8688	0,0069	0,0374	0,95	2,78	9,8688 ± 0,1038	1,05
		9,8125							
		9,8670							
		9,9435							
		9,9580							
C.densiflora									
5	4	7,8950	8,0166	0,0109	0,0467	0,95	2,78	8,0166 ± 0,1297	1,62
		7,9565							
		7,9865							
		8,1525							
		8,0925							

Продовження табл. 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C.submollis									
5	4	10,45	10,8048	0,1010	0,142	0,95	2,78	10,8048 ± 0,3951	3,66
		10,65							
		10,76							
		10,86							
		11,31							
C.flabellata									
5	4	9,0257	9,2941	0,0667	0,116	0,95	2,78	9,2941 ± 0,3210	3,454
		9,1015							
		9,2370							
		9,6535							
		9,4530							

де: D — оптична густина досліджуваного розчину при визначеній довжині хвилі (45 нм);

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ — екстинція, для β-каротину при довжині хвилі 453 нм $E_{1\text{см}}^{1\%}$ складає 2592;

10 — вміст каротину у 1 мл 1%-го розчину, мг;

V — загальний об'єм екстракту, мл;

V₁ — об'єм екстракту, взятий для хроматографування, мл;

V₂ — об'єм елюату, мл;

a — наважка, г.

Кількісний вміст каротиноїдів для *C.canadensis* складає 9,8 мг%, *C.mollis* — 10,2 мг%, *C.densiflora* — 8,3 мг%, *C.submollis* — 11 мг%, *C.flabellata* — 9,5 мг%. Кількісне визначення проводили у п'яти

повтореннях. Метрологічну характеристику визначення каротиноїдів наведено у табл. 4.

ВИСНОВКИ

1. Отримані ліпофільні фракції плодів 5 видів глодів, вихід яких (з урахуванням вологості сировини) складає від 0,57% до 9,02%.

2. Визначено кількісний вміст каротиноїдів, який складає 8,3-11 мг%.

3. У плодах ідентифіковано 11 жирних кислот, 2 з яких (лінолева та ліноленова) є незамінними. Встановлено, що домінуючими в усіх видах (мкг/100 мг) є пальмітинова (182,5-1735), олеїнова (625-6667), стеаринова (20-667) та лінолева (960-24000) кислоти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Евдокимов О.В., Самылина И.А., Нестерова О.В. // Фармація. — 1992. — 41, №3. — С. 60-61.
2. Ковальова А.М., Сидора Н.В., Ковальов С.В. та ін. // Вісник фармації. — 2005. — №2. — С. 16-20.
3. Ковальова А.М., Сидора Н.В., Ковальов С.В., Комісаренко А.М. // Вісник фармації. — 2006. — №1. — С. 17-21.
4. Кудрицкая С.Е. Каротиноиды плодов и ягод. — К.: Вища шк., 1990. — 221 с.
5. Boardman N.K., Anciersen J.M. // Biochim. et Biophys. Acta. — 1967. — P. 143-187.
6. Bunnell R.H. In: The Vitamins, 2-nd ed. — N.Y., L., 1967. — 200 p.
7. Der Weibdorn — eine Pflanze nicht nur fuers Herz / Stuhlemmer Ursel // Z. Phytotheur. — 2003. — Vol. 24, №3. — P. 125-217.
8. Foster S.N., Duke J.A. A Field Guide to Medicinal Plants. Eastern and Central N. America. — Houghton Mifflin Co., 1990. — P. 150.
9. Genders R.F. Scented Flora of the World. — Robert Hale. London, 1994. — P. 75.
10. Kowalchik C.D., Hylton W.L. Rodale's Illustrated Encyclopedia of Herbs. — Emmaus, Pa: Rodale Press, 1998. — P. 120.
11. Wichtl M.C. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. — Boca Raton, Fla: CRC Press, 1994. — P. 19.

УДК 582.734.3:581.47:543.852:547.979.8:547.979.7:54.06
ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ ПЛОДОВ ВИДОВ РОДА CRATAEGUS L.

А.М.Ковалева, Н.В.Сидора

Представлены результаты исследования липофильной фракции плодов 5 видов боярышников: *C.canadensis*, *C.mollis*, *C.densiflora*, *C.submollis*, *C.flabellata*. Определено количественное содержание липофильных фракций в растительном сырье, которое составляет 0,57-9,02%. Хроматографическими методами в сырье идентифицированы хлорофиллы и каротиноиды. Спектрофотометрическим методом определено количественное содержание каротиноидов, которое составило (мг%) для: *C.canadensis* — 9,8, *C.mollis* — 10,2, *C.densiflora* — 8,3, *C.submollis* — 11, *C.flabellata* — 9,5. Методом газовой хроматографии определен качественный состав и количественное содержание свободных жирных кислот. В плодах идентифицировано 11 жирных кислот.

UDC 582.734.3:581.47:543.852:547.979.8:547.979.7:54.06
THE CHEMICAL ANALYSIS OF LIPOPHILIC FRACTIONS FROM FRUITS OF CRATAEGUS L. SPECIES GENUS
A.M.Kovalyova, N.V.Sidora

The results of the lipophilic fractions study from 5 species of hawthorn: *C.canadensis*, *C.mollis*, *C.densiflora*, *C.submollis*, *C.flabellata* are given. The quantitative content of the lipophilic fractions in the plant raw material has been determined and equals 0.57-9.02%. By the methods of chromatography the chlorophylls and carotenoids have been identified in the raw material. By the spectrophotometric method the quantitative content of carotenoids has been established. It consists of *C.canadensis* — 9.8, *C.mollis* — 10.2, *C.densiflora* — 8.3, *C.submollis* — 11, *C.flabellata* — 9.5. By the gas chromatography the qualitative composition and the quantitative content of free fatty acids have been determined. In fruits eleven fatty acids have been identified.