

АНАЛІЗ РЕЧОВИН ЛІПОФІЛЬНОЇ ПРИРОДИ В ОРГАНАХ ЛЮБИСТКУ ЛІКАРСЬКОГО (*LEVISTICUM OFFICINALE* KOCH.)

Виділено ліпофільні комплекси з листків, плодів та кореневищ і коренів любистку лікарського. Проведено їх органолептичний, якісний та кількісний аналіз.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпофільна фракція, хлорофіли, каротиноїди, любисток лікарський.

ВСТУП. Ліпофільні екстракти є комплексом біологічно активних сполук – хлорофілів, фітостеролів, жиророзчинних вітамінів, каротиноїдів, жирних кислот, які проявляють різні види біологічної активності [2–4, 6–10]. Хлорофіли мають антимікробну активність та стимулюють кровотворення [3, 8, 9]. Токоферолі та каротиноїди використовують як антиоксидантні речовини, каротиноїди мають мембраностабілізуючі властивості та А-провітамінну активність [3, 9]. Жирні кислоти є обов'язковим компонентом біологічних мембран, вони відіграють важливу роль в енергетиці живої клітини, метаболізмі стероїдних сполук, беруть участь у біосинтезі жирів [6, 10].

Більшість із цих речовин є біологічними ефекторами, медіаторами і регуляторами, які беруть участь у фізіологічних процесах, таких, як розвиток імунітету, регуляція судинного та м'язового тону, передача нейрональної інформації, гемостаз та запальні процеси, які відбуваються в організмі, а також багатьох біохімічних реакціях, що перебігають у клітинах людського організму [2, 7].

Беручи до уваги високий природний та фармакологічний потенціал ліпофільних сполук [2-4, 6-10] та продовжуючи пошук нових біологічно активних речовин ліпофільної природи, метою роботи було отримати ліпофільні комплекси з листків, плодів та кореневищ і коренів любистку лікарського, дослідити їх хімічний склад та визначити кількісний вміст.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктами дослідження були листки, плоди та кореневища і корені любистку лікарського, заготовлені з дослідних ділянок ботанічного саду "Червона калина" (Тернопільська обл.) у 2009–2010 рр. Виділення ліпофільних комплексів проводили

© Н. В. Челін, С. М. Марчишин, 2012.

шляхом вичерпного екстрагування рослинної сировини хлороформом в апараті Сокслета. З метою стандартизації одержаних ліпофільних фракцій визначали їх органолептичні показники та встановлювали кількісний вміст [7].

Визначення каротиноїдів та хлорофілів проводили методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках "Sorbfil" у системах розчинників: гексан-ацетон (6:2) – I напрямом, гексан-ацетон (6:4) – II напрямом [3, 8, 9].

Для визначення якісного складу ліпофільних фракцій було також застосовано тривимірну флуоресцентну спектроскопію. Визначали якісний склад та кількісний вміст рослинних пігментів, використовуючи 3DF-спектроскопію, яку застосовують для аналізу сумішей, що містять флуоресцюючі компоненти. 3DF-спектри у вигляді "поверхні", яка характеризується функцією $I=f(\lambda_{\text{exc}}, \lambda_{\text{em}})$, реєстрували в ультрафіолетовому та видимому діапазонах за допомогою флуорометра Hitachi F4010. Вимірювали спектр у діапазонах збудження (λ_{exc}) і випромінення (λ_{em}) від 220 до 750 нм з кроком 5 нм. Подальшу обробку записів з побудовою тривимірних графіків проводили за допомогою програмного пакета "Spectra Data Lab", розробленого в НДІ хімії при Харківському національному університеті ім. В. Н. Каразіна [1, 5].

Значну кількість природних ліпофільних комплексів складають жирні кислоти. Тому раніше методом газорідинної хроматографії (ГРХ) нами було проведено визначення компонентного складу та вмісту жирних кислот на хроматографі з полум'яно-іонізаційним детектором "Shimadzu GC-14B" [10].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для одержання ліпофільних фракцій 3,0 г подрібненої сировини (точна наважка) вичерпно екстрагували хлороформом в апараті Сокслета (до

знебарвлення екстракту в зливному патрубку та негативної реакції на жир). Колбу-приймач зважували до і після екстракції. Отримані хлороформні екстракти випарювали до видалення екстрагенту, колбу висушували в сушильній шафі до сталої маси.

Ліпофільна фракція з листків любистку лікарського – густа масляниста однорідна маса брудно-зеленого кольору з приємним специфічним запахом; добре розчиняється у хлороформі, не розчиняється у воді та спирті. Вихід ліпофільних речовин з листків любистку лікарського в перерахунку на абсолютно суху сировину становив $(4,17 \pm 0,23)$ %.

Ліпофільна фракція з кореневищ і коренів любистку лікарського являє собою густу маслянисту однорідну масу жовто-коричневого кольору з приємним своєрідним запахом; добре розчиняється у хлороформі, не розчиняється у воді та спирті. Вміст ліпофільної фракції у підземних органах становить $(3,79 \pm 0,15)$ % у перерахунку на абсолютно суху сировину.

Вихід ліпофільних речовин з плодів любистку лікарського є найбільшим, порівняно з іншими органами рослини, і становить $(7,99 \pm 0,18)$ % у перерахунку на абсолютно суху сировину. Ліпофільна фракція з плодів любистку лікарського – густа масляниста однорідна маса темно-коричневого кольору з приємним специфічним запахом; добре розчиняється у хлороформі, не розчиняється у воді та спирті.

Одержані ліпофільні комплекси було використано для подальших досліджень. У результаті проведеного хроматографічного аналізу встановлено наявність каротиноїдів, хлорофілів, токоферолів та кумаринів. Схеми ТШХ наведено на рисунках 1–3.

У результаті хроматографічних досліджень ліпофільних фракцій локалізацію хлорофілів на хроматограмах визначали за характерним

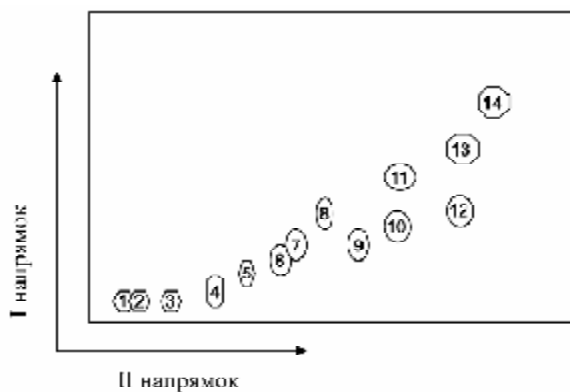


Рис. 1. Схема тонкошарової хроматограми ліпофільного екстракту з листків любистку лікарського. Система розчинників: I напрямок – гексан-ацетон (6:2); II напрямок – гексан-ацетон (6:4).

темно-зеленим забарвленням у видимому світлі, а в УФ-світлі – за яскраво-червоною флуоресценцією [3–5, 8, 9]. Наявність каротиноїдів на хроматограмах визначали за жовтим забарвленням плям у видимому світлі та коричневою флуоресценцією плям в УФ-світлі. Для підтвердження наявності каротиноїдів хроматограми обробляли 2 % розчином *n*-диметиламінобензальдегіду в суміші етанолу та кислоти хлористоводневої з наступним витриманням хроматограм у сушильній шафі при 90 °С протягом 5 хв. Плями, які відповідали каротиноїдам, мали рожево-фіолетове забарвлення [3–5, 8, 9]. Токофероли мали синьо-голубу флуоресценцію в УФ-світлі та характерне синьо-фіолетове забарвлення плям на хроматограмах при обробці параами йоду [3, 9]. На хроматограмах плями мали яскраво-блакитну флуоресценцію, після обробки діазореактивом набували червоно-коричневого забарвлення та були віднесені нами до кумаринів [8].

Як видно на схемах хроматограм ліпофільних екстрактів: у ліпофільній фракції з листків любистку лікарського (рис. 1) виявлено 14



Рис. 2. Схема тонкошарової хроматограми ліпофільного екстракту з плодів любистку лікарського. Система розчинників: I напрямок – гексан-ацетон (6:2); II напрямок – гексан-ацетон (6:4).

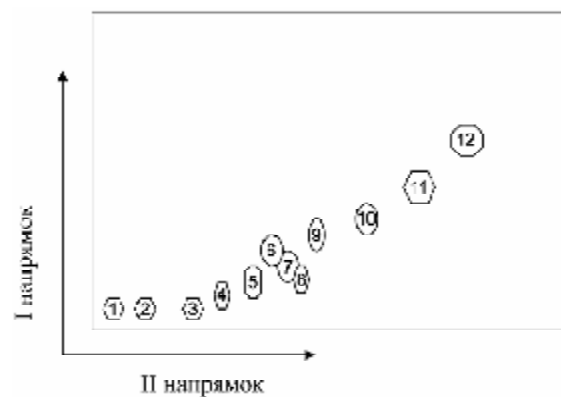


Рис. 3. Схема тонкошарової хроматограми ліпофільного екстракту з кореневищ і коренів любистку лікарського. Система розчинників: I напрямок – гексан-ацетон (6:2); II напрямок – гексан-ацетон (6:4).

речовин. Речовини 1–3, 9, 10, 12 віднесені нами до хлорофілів; 5, 7 – до каротиноїдів; 4, 6, 8, 11, 13 – до токоферолів і 14 – до кумаринів. Ліпофільний екстракт з плодів любистку лікарського (рис. 2) містить 9 речовин, з яких: 1, 2, 5, 7 – каротиноїди; 3, 4, 6, 8 – токоферолі; 9 речовина віднесена до кумаринів. У ліпофільній фракції з кореневищ і коренів любистку лікарського (рис. 3) встановлено 12 речовин, з них: 1, 2, 5, 7, 8, 10 – віднесено до каротиноїдів; 3, 4, 6, 9, 11, – до токоферолів; 12 – кумарин.

Аналіз одержаних і досліджених двовимірних хроматограм свідчить про наявність у ліпофільному екстракті з листків любистку лікарського речовин, здатних до флуоресценції. Для подальшого дослідження нами було отримано тривимірні спектри флуоресценції ліпофільного комплексу з листків любистку лікарського в хлороформі й метанолі та проведено їх аналіз (рис. 4, 5).

Результати досліджень показали, що ліпофільному комплексу з листків любистку лікарського у метанолі властиві піки в ділянках λ_{exc} – 280–370 нм, λ_{eni} – 390–540 нм, що свідчить про наявність простих фенолів, серія

пиків (λ_{exc} – 340–450, 500–580, 600–690 нм і λ_{em} – 650–700 нм) – ділянка флуоресценції хлорофілів. Аналіз ліпофільного комплексу з листків любистку лікарського в хлороформі показав серію пиків (λ_{exc} – 310–460, 480–560, 560–580 нм і λ_{em} – 650–720 нм), що характерно для ділянки флуоресценції хлорофілів, піки в ділянках λ_{exc} – 300–360 нм, λ_{eni} – 400–520 нм свідчать про наявність агліконів флавоноїдів.

Визначення кількісного вмісту суми каротиноїдів і хлорофілів у ліпофільній фракції з листків любистку лікарського в метанолі показало, що вміст хлорофілів становить 0,57 мг/г, каротиноїдів – 20,67 мг/г; у хлороформі вміст хлорофілів складає 2,27 мг/г, каротиноїдів – 7,70 мг/г.

Як було встановлено раніше [10], у ліпофільних фракціях з листків, плодів та кореневищ і коренів любистку лікарського методом газорідинної хроматографії встановлено наявність 13, 12 та 14 жирних кислот відповідно. Жирнокислотний склад любистку характеризується мінливістю кількісного вмісту та якісного складу в різних органах рослини, проте характерною ознакою є переважний вміст ненасичених жирних кислот.

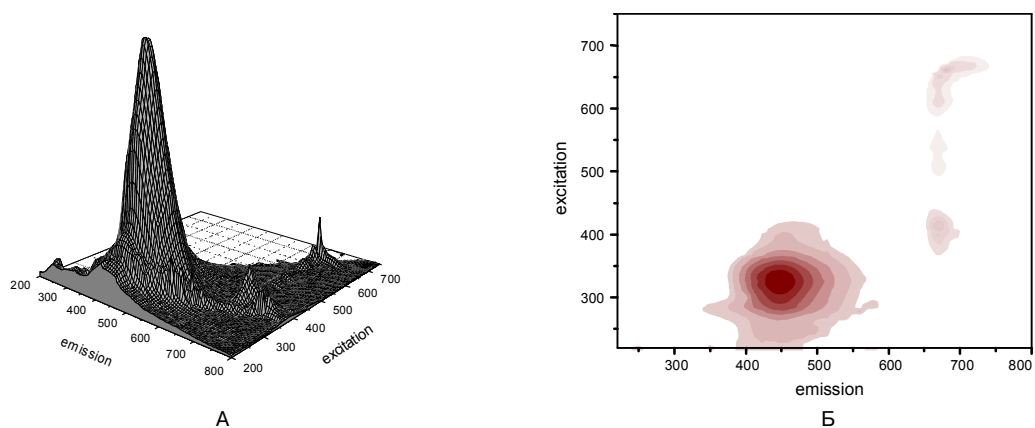


Рис. 4. Тривимірний спектр флуоресценції (А) та його логарифмічна проекція на площину (Б) ліпофільної фракції з листків любистку лікарського в метанолі.

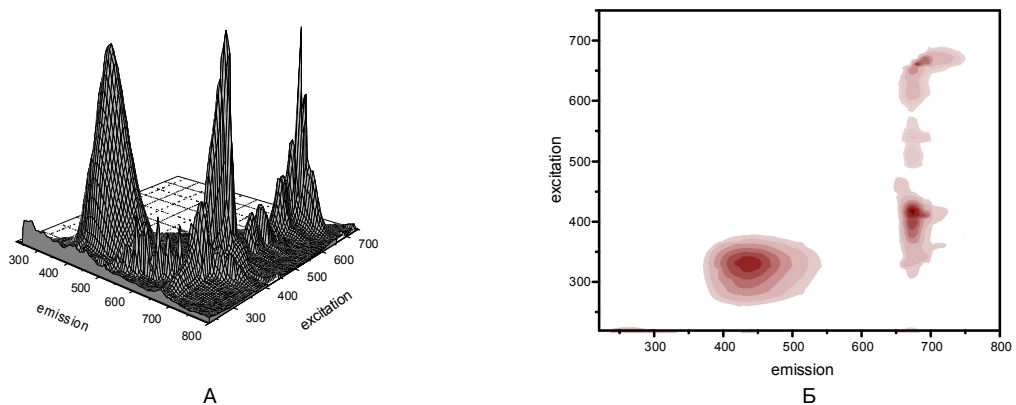


Рис. 5. Тривимірний спектр флуоресценції (А) та його логарифмічна проекція на площину (Б) ліпофільної фракції з листків любистку лікарського в хлороформі.

ВИСНОВКИ. 1. Виділено речовини ліпофільної природи з листків, плодів та кореневищ і коренів любистку лікарського та проведено їх комплексний аналіз. Здійснено органолептичний аналіз та визначено кількісний вміст отриманих ліпофільних фракцій.

2. Методом двовимірної тонкошарової хроматографії проведено якісний аналіз ліпофільних екстрактів з листків, плодів та коре-

невищ і коренів любистку лікарського. Виявлено наявність у досліджуваних органах каротиноїдів, хлорофілів, токоферолів та кумаринів.

3. Отримано тривимірні спектри флуоресцюючих компонентів ліпофільної фракції з листків любистку лікарського у двох розчинниках; визначено кількісний вміст суми хлорофілів та каротиноїдів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Визначення видового походження рослинних олій / В. А. Параніч, А. О. Дорошенко, О. Д. Рошаль [та ін.] // Фармац. журн. – 2000. – № 5. – С. 86–90.

2. Гонський Я. І. Біохімія людини : підруч. / Я. І. Гонський. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2001. – 736 с.

3. Затильнікова О. О. Хімічне вивчення ліпофільної фракції з кореневищ півників болотяних / О. О. Затильнікова, С. В. Ковальов, Т. П. Осолодченко // Вісник фармації. – 2008. – № 3. – С. 9–12.

4. Ковальова А. М. Хімічне дослідження ліпофільних фракцій плодів видів роду *Crataegus* L. / А. М. Ковальова, Н. В. Сидора // Вісник фармації. – 2006. – № 4. – С. 8–12.

5. Ковальов С. В. Дослідження ліпофільних фракцій трави ледвенця українського та польового / С. В. Ковальов // Вісник фармації. – 2010. – № 1. – С. 27–31.

6. Мамедова С. О. Дослідження складу токоферолів та жирних кислот *Rubus idaeus* / С. О. Маме-

дова, І. О. Журавель, О. І. Павлій // Вісник фармації. – 2009. – № 2. – С. 31–34.

7. Солодовниченко Н. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати : посіб. з фармакогнозії з основами біохім. лікар. рослин / Н. М. Солодовниченко, М. С. Журавльов, В. М. Ковальов. – Харків : Вид-во НФАУ “Золоті сторінки”, 2001. – 480 с.

8. Тернинко І. І. Вивчення ліпофільних комплексів трави та зерна вівса посівного (*Avena sativa* L.) / І. І. Тернинко, О. В. Бурцева // Фармац. журн. – 2010. – № 1. – С. 89–95.

9. Хімічне вивчення ліпофільної фракції з шишок хмелю звичайного / С. І. Берестова, В. М. Ковальов, С. В. Ковальов [та ін.] // Вісник фармації. – 2006. – № 1. – С. 22–25.

10. Челін Н. В. Жирнокислотний склад любистку лікарського (*Levisticum officinale* Koch.) / Н. В. Челін, С. М. Марчишин // Укр. журн. клін. та лаб. мед. – 2011. – № 1. – С. 33–36.

Н. В. Челін, С. М. Марчишин

ТЕРНОПОЛЬСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННИЙ МЕДИЦИНСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

АНАЛИЗ ВЕЩЕСТВ ЛИПОФИЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В ОРГАНАХ ЛЮБИСТКА ЛЕКАРСТВЕННОГО (*LEVISTICUM OFFICINALE* KOCH.)

Резюме

Выделены липофильные комплексы из листьев, плодов, корневых и корневищ любистка лекарственного. Проведено их органолептический, качественный и количественный анализ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **липофильная фракция, хлорофиллы, каротиноиды, любисток лекарственный.**

N. V. Chelin, S. M. Marchyshyn

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

ANALYSIS OF SUBSTANCES OF LIPOPHILIC NATURE IN ORGANS OF LOVAGE (*LEVISTICUM OFFICINALE* KOCH.)

Summary

Lipophilic complexes were isolated from the leaves, fruits, rhizomes and roots of lovage (*Levisticum officinale*). There was made their organoleptic, qualitative and quantitative analysis.

KEY WORDS: **the lipophilic fraction, chlorophylls, carotenoids, lovage (*Levisticum officinale*).**

Отримано 01.02.12

Адреса для листування: Н. В. Челін, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.