

УДК: 615.322:633.366:547

© Грудько И.В., Ковалева А.М., Ильина Т.В., 2012

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ЛИСТЬЕВ, ЦВЕТКОВ И ПЛОДОВ ДОННИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО (*MELILOTUS OFFICINALIS* L.)

Грудько И.В., Ковалева А.М., Ильина Т.В.

Национальный фармацевтический университет

Введение. Донник лекарственный – *Melilotus officinalis* L., семейства бобовые *Fabaceae.*, распространен по всей территории Украины [5]. Входит в состав Фармакопеи Украины (ДФУ), Британской фармакопеи. В официальной медицине применяется, как кумариносодержащее сырье, которое проявляет гипокоагулянтное, антиагрегантное, антиоксидантное, гепатопротекторное, адаптогенное действие, применяется при сосудистых и сердечнососудистых заболеваниях, защищает и восстанавливает внутреннюю оболочку кровеносных и лимфатических сосудов, улучшает функциональное состояние сосудов после радиоактивного облучения. Целесообразность комплексного изучения биологически активных веществ этого растения является актуальной для фармации.

Продолжая исследование биологически активных веществ донника лекарственного, нами проведено жидкостное фракционирование соединений донника, с использованием органических растворителей различной полярности. Ранее нами сообщались результаты выделения и установления структуры фенольных соединений, флавоноидов и компонентного состава эфирного масла разных видов донников. Была установлена выраженная антибактериальная активность экстрактов донника лекарственного [2-4, 6-8]. Целью данного исследования стало исследование состава карбоновых кислот листьев, цветков и плодов донника лекарственного, заготовленные в фазу цветения летом 2011г. в окрестностях г. Харькова.

Материалы и методы исследования. Исследование проводили методом хромато-масс-спектрометрии на хроматографе Agilent Technology 6890N с масс-спектрометрическим детектором 5973N. Для этого к 50 мг навески сырья в виале на 2 мл добавляли внутренний стандарт (раствор 50 мкг тридекана в гексане) и 1 мл метилирующего агента (14% раствор BCl_3 в метаноле, Supelco 3-3033). Смесь выдерживали в герметически закрытой виале 8 часов при 65°C , отфильтровывали и фильтрат разводили 1 мл дистиллированной воды. Метилловые эфиры экстрагировали 0,2 мл хлористого метилена, аккуратно встряхивая несколько раз в течение часа, затем хроматографировали полученную вытяжку. Введение пробы (2 мкл) в хроматографическую колонку проводили в режиме *splitless*, то есть без разделения потока. Скорость введения пробы 1,2 мл/мин на протяжении 0,2 мин. Хроматографическая колонка капиллярная INNOWAX, с внутренним диаметром 0,25 мм и

длиной 30 м. Скорость газа-носителя (гелия) 1,2 мл/мин. Температура нагревателя введения пробы – 250°C . Температура термостата программируется от 50°C до 250°C со скоростью 4 град/мин.

Для идентификации компонентов использовали данные библиотеки масс-спектров NIST05 и WILEY 2007 с общим количеством спектров более 470000 вместе с программами для идентификации AMDIS и NIST. Содержание веществ рассчитывали относительно внутреннего стандарта.

Результаты и их обсуждение. В результате исследования листьев, цветков и плодов донника лекарственного определены 9 карбоновых кислот (рис. 1-3, табл. 1).

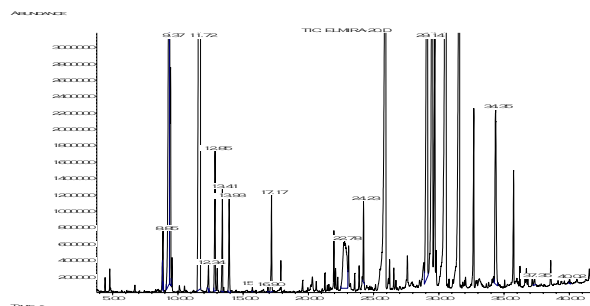


Рис. 1. Схема хроматограммы карбоновых кислот плодов донника лекарственного

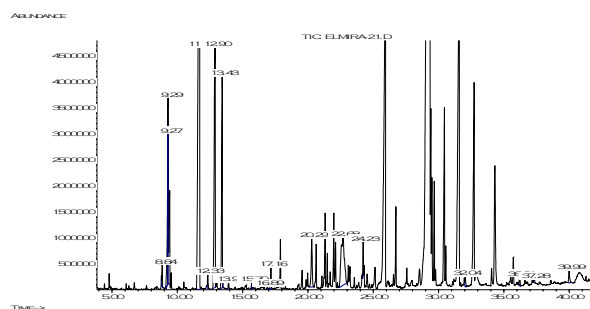


Рис. 2. Схема хроматограммы карбоновых кислот листьев донника лекарственного

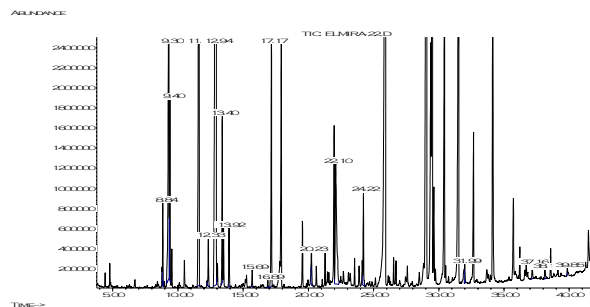


Рис. 3. Схема хроматограммы карбоновых кислот цветков донника лекарственного

Таблица 1. Кислотный состав донника лекарственного

№ п/п	Вещество	Время выхода, мин	Листья <i>Melilotus officinalis</i> мг/1000г	Цветки <i>Melilotus officinalis</i> мг/1000г	Плоды <i>Melilotus officinalis</i> мг/1000г
1	Глиоксиловая кислота	8.83	153	152	213
2	Щавелевая кислота	9.28	2518	448	1931
3	Малоновая кислота	11.7	10034	1942	7305
4	Фумаровая кислота	12.32	131	103	113
5	Янтарная кислота	13.43	2248	334	425
6	Глутаровая кислота	15.69	41	34	17
7	2-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота	20.28	802	87	
8	Яблочная кислота	22.68	2521	685	1226
9	Лимонная кислота	24.23	276	216	292

Полученные результаты свидетельствуют, что донник лекарственный синтезирует монокарбоновую - яблочную; дикарбоновые - щавелевую, малоновую, янтарную, глутаровую, 2-гидрокси-3-метилглутаровую; трикарбоновую - лимонную; непредельную дикарбоновую - фумаровую; альдегидокислоту - глиоксиловую (глиоксальную) кислоты, которые являются катализаторами биохимических процессов и активаторами тканевого дыхания в растительных и в животных организмах, проявляют различное фармакологическое действие [1, 9].

Основными для листьев являются щавелевая, малоновая, янтарная и яблочная кислоты. Плоды преимущественно накапливают щавелевую, малоновую и яблочную кислоты. Цветки также содержат малоновую, яблочную и щавелевую кислоты,

но накапливают их в меньших количествах. Кроме того, для листьев и цветков характерно наличие 2-окси-3-метилглутаровой кислоты.

Выводы: Методом хромато-масс-спектрометрии в цветках, листьях и плодах *Melilotus officinalis* идентифицировано и количественно определено 9 карбоновых кислот: монокарбоновую - яблочную; дикарбоновые - щавелевую, малоновую, янтарную, глутаровую, 2-гидрокси-3-метилглутаровую; трикарбоновую - лимонную; непредельную дикарбоновую - фумаровую; альдегидокислоту - глиоксиловую кислоты. Результаты исследования кислотного состава цветков, листьев и плодов *Melilotus officinalis* свидетельствуют о перспективности углубленного изучения их фармакологического действия.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Верещагин А.Л. О механизме ростостимулирующего действия сверхмалых доз природных органических кислот / А.Л. Верещагин, В.В. Кропоткина, А.Н. Хмелева // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2006. - №1. - С.46-48.
2. Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з антимікробною дією / І.В. Грудько, Н.В. Кашпур, А.М. Ковальова та ін. // Патент на корисну модель № 70295 від 11.06.2012.
3. Спосіб одержання ліпофільного комплексу антимікробної дії / І.В. Грудько, Н.В. Кашпур, А.М. Ковальова та ін. // Патент на корисну модель № 70294 від 11.06.2012.
4. Фенольні сполуки коренів буркуну лікарського / А.М. Ковальова, І.В. Грудько, Т.В. Ільїна, С.В. Русанова // Вісник фармації. - 2010. - №4, - с. 59-61.
5. Флора Европейской части СССР / М.: Наука. - 1978. - Т.3. - 259с.
6. Хімічне дослідження ліпофільних біологічно активних речовин трави *Melilotus officinalis* / Ковальова А.М., Грудько І.В., Комісаренко А.М., Гриценко О.М. // Зб. Наукових праць робітників НМАПО. - вип.18. - кн.3 - 2009. - с. 438-445.
7. Хромато-мас-спектрометричне визначення компонентів ефірної олії буркуну лікарського / А.М. Ковальова, І.В. Грудько, А.М. Комісаренко, О.М. Кошовий // Вісник фармації. - 2009. - №4. - с. 12-15.
8. Хромато-мас-спектрометричне дослідження хлороформної фракції трави *Melilotus officinalis* / А.М. Ковальова, І.В. Грудько, А.Н. Александров, А.Н. Комісаренко // Хімія природ.соедин. - 2009. - №4. - с. 492.
9. *Havnes, William M., ed. // CRC Handbook of Chemistry and Physics (92nd ed.). - CRC Press. - 2011. - pp.5-94 to 5-98.*

Грудько І.В., Ковалева А.М., Ільїна Т.В. Исследование карбоновых кислот листьев, цветков и плодов донника лекарственного (*Melilotus officinalis* L.) // Український медичний альманах. - 2012. - Том 15, № 5. - С. 69-70.

Методом хромато-мас-спектрометрії проведено вивчення якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот плодів, листів і квіток донника лекарственного (*Melilotus officinalis* L.). В результаті дослідження встановлено 9 карбонових кислот: малонову, щавелеву, фумарову, янтарну, глутарову, глиоксилову, 2-гидрокси-3-метилглутарову, лимонну і яблочну кислоти.

Ключевые слова: донник лекарственный, карбоновые кислоты, хромато-мас-спектрометрия.

Грудько І.В., Ковальова А.М., Ільїна Т.В. Дослідження карбонових кислот листя, квіток і плодів буркуну лікарського (*Melilotus officinalis* L.) // Український медичний альманах. - 2012. - Том 15, № 5. - С. 69-70.

Методом хромато-мас-спектрометрії проведено вивчення якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот листя, квіток і плодів буркуну лікарського (*Melilotus officinalis* L.). В результаті дослідження встановлено 9 карбонових кислот: малонову, щавелеву, фумарову, бурштинову, глутарову, глиоксилову, 2-гидрокси-3-метилглутарову, лимонну і яблочну кислоти.

Ключові слова: буркун лікарський, карбонові кислоти, хромато-мас-спектрометрія.

Grudko I.V., Kovalyova A.M., Pyina T.V. Study of carboxylic acids leaves, flowers and fruits Melilot (*Melilotus officinalis* L.) // Український медичний альманах. - 2012. - Том 15, № 5. - С. 69-70.

By the gas chromatography-mass spectrometry method studied qualitative and quantitative content of carboxylic acids fruits, leaves and flowers Melilot (*Melilotus officinalis* L.). The study installed 9 carboxylic acids: malonic, oxalic, fumaric, succinic, glutaric, glyoxylic, 2-hydroxy-3-methylglutaric, citric and malic acids.

Key words: Melilot, carboxylic acids, gas chromatography-mass spectrometry.

Надійшла 05.09.2012 р.
Рецензент: проф. Л.В.Савченкова