

УДК: 615.32: 582.736.3] – 028.77

О.В. Гречана**ПОРІВНЯЛЬНИЙ ФІТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ СИРОВИНИ LUPINUS LUTEUS L.***Запорізький державний медичний університет***Гречана О.В.** Порівняльний фітохімічний аналіз сировини *Lupinus luteus* L. // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 1. – С. 147-149.

Проведено газо-рідинну хроматографію з мас-спектрометричним детектуванням нативної (визначено 64 сполуки, з яких ідентифіковано 31 компонент) та гідролізованої розчиненою сульфатною кислотою (визначено 56 сполук, з яких ідентифіковано 34 компоненти) сировини *Lupinus luteus* L. Сполук – похідних α пірону – кумарину у нативному екстракті з сировини визначено 0,16 мг / %; у гідролізованому – кумарину практично у 100 раз більше – 16,4 мг / % та ідентифікований і кількісно визначений 6 метилкумарин (2,7 мг / %).

Ключові слова: *Lupinus luteus* L., фармакогностичне дослідження, зв'язані та вільні кумарини**Гречаная Е.В.** Сравнительный фитохимический анализ сырья *Lupinus luteus* L. // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 1. – С. 147-149.

Проводилась газо-жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием экстракта из нативного (определено 64 соединения, из которых идентифицирован 31 компонент) и гидролизованного разведенной сульфатной кислотой (определено 56 соединений, из которых идентифицированы 34 компонента) сырья *Lupinus luteus* L. Веществ – производных α пиррона – кумарина в нативном сырье определено 0,16 мг / %; в гидролизованном – кумарина практически в 100 раз больше – 16,4 мг / %; идентифицирован и количественно определен 6 метилкумарин (2,7 мг / %).

Ключевые слова: *Lupinus luteus* L., фармакогностическое исследование, кумарини**Grechana O.V.** The comparative phytochemical analysis of raw materials of *Lupinus luteus* L. // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 1. – С. 147-149.

We conducted gas- liquid chromatography with mass spectrometric detection of native (was founded 64 compounds, of which 31 were identified component) and hydrolyzed diluted sulfuric acid (was founded 56 compounds, of which 34 were identified component) in raw of *Lupinus luteus* L. Compounds - derivatives of α piron - coumarin in native raw materials identified 0,16 mg / %; in the hydrolyzed - coumarin is almost 100 times greater – 16,4 mg / %. Identified and quantified 6 methylcoumarin 2,7 mg / %.

Key words: *Lupinus luteus* L., pharmacognostic study, linked and free coumarin

Люпин є одним з найдавніших культурних рослин. Понад чотирьох тисяч років тому в Єгипті існувала досить розвинена культура білого люпину. Другий осередок давньої культури знаходився в Південній Америці, де вирощували інший вид люпину - мінливий. У Центральній Європі люпин почали вирощувати в другій половині XIX сторіччя як сидеральну культуру, а потім - як найціннішу кормову рослину [2-3, 5-6].

Рід *Lupinus* (Tourn.) L., що відноситься до родини бобові - Fabaceae, відрізняється великим поліморфізмом. Описано біля 1000 трав'янистих, напівкущових та кущових, однорічних та багаторічних, зимуючих видів люпину [5, 7].

Гіпократ, Діоскорид, Авіцена, Гален, ботанік Теофраст та ін. у своїх античних книгах згадували люпин як корисну їстівну та лікувальну-косметичну рослину [10].

Люпин у народній медицині застосовується проти наривів, родимих плям, для збудження апетиту, як засіб від глистів та болів у животі та печінці. З косметичними цілями – для зростання волосся та проти зморшок [4, 9].

Як кормова культура, люпин застосовується різноманітно: зелена маса добре силосується, з неї готують сіно і сінне борошно; посіви люпину використовуються на зелений корм і як пасовище; зерно служить прекрасним концентрованим кормом. Основні райони культури – Україна, Білорусь, Росія [2, 3].

Сучасний етап у розвитку люпиновисіван-

на характеризується зростаючим інтересом до люпину як до альтернативи сої у світовому землеробстві у зв'язку з гострим відчуттям дефіциту кормового та харчового білка. Багато вчених відмічають багатогранне використання цієї рослини. Використовується він з різними цілями у медицині, парфумерії, землеробстві, тваринництві, лісництві, садівництві, квітництві, ґрунтозахисному ділі, лакофарбовій промисловості [2-4].

Lupinus luteus L. - люпин жовтий - введено до культури 130 років тому. Дикі форми його зустрічаються по всьому середземноморському узбережжю. З люпином жовтим проведено велику селекційну роботу - за вмістом білка в насінні і зеленій масі він посідає перше місце серед інших оброблюваних видів. Крім того, в його насінні міститься до 5% жиру [5, 7].

В Україні зареєстровано ряд біологічно активних добавок, у складі яких міститься різний вміст біологічно активних субстанцій, отриманих з люпину з рекомендаціями для внутрішнього або зовнішнього застосування. На вітчизняному ринку присутні: «Формула роста волос» - капсули № 60 та шампунь виробництва Росії; «Зелена аптека. Настій для волос. Збір – 2 – проти випадіння, для закріплення та росту волосся» - 250 мл вітчизняного виробництва; вітаміни для жінок Women's Ultra Mega № 80 виробництва GNC, США; Фітокомплекс 5 – 50мл ЗАО «Медикон», Росія; крем Гистан, 30 мл фірми «Вітамекс», Казахстан тощо.

Мета та цілі дослідження: При широкому застосуванні люпину, дані щодо вивчення цієї рослини розрізнені; відсутні стандарти щодо заготівлі, хімічного складу тощо; не проводилось широкого фармакогностичного вивчення на вміст багатьох класів біологічно активних речовин, на їх накопичення, взаємодію між собою та навколишнім середовищем.

Тому, метою нашого дослідження був порівняльний аналіз хімічного складу та кількісного вмісту кумаринів та інших біологічно активних речовин первинного і вторинного біосинтезу у надземній частині представника роду *Lupinus* (Tourm.) L. - *Lupinus luteus* L. до та після кислотного гідролізу (згідно НДР кафедри).

Матеріали і методи дослідження: Рослинний матеріал (траву) заготовляли у період активного цвітіння рослини - (травень – червень) у передмісті Запоріжжя (сmt Приморське). Висушу-

вали на протязі у тіні при температурі до 40° С.

Для гідролізування рослинної сировини: точну наважку рослинного матеріалу заливали водою, додаючи кілька крапель сульфатної кислоти (розчиненої). Витримували у теплі протягом визначеного часу. Після охолодження розчин екстрагували хлористим метиленом. Екстрагент випарювали. Екстракт аналізували хроматографічно.

Для проведення аналізу нативної сировини: до точної наважки рослинного матеріалу додавали хлористий метилен. Екстрагували протягом визначеного часу. Екстрагент упарювали. Екстракт аналізували хроматографічно.

Хроматограф Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором 5973. Газ – носій – гелій. Хроматографічна колонка - капілярна DB-5 зі внутрішнім діаметром 0,25 мм, завдовжки 30 м.

Таблиця 1. Порівняльна характеристика компонентного складу сировини *Lupinus luteus* L., що заготовлено у Запорізькій обл., сmt Приморське (травень-червень) 2010 – 2013рр.

Нативний витяг			Витяг з гідролізованої сировини		
№ з/п	Компонент	Кількісний вміст (мг %)	№ з/п	Компонент	Кількісний вміст (мг %)
1	внутрішній стандарт	53,2	1	3 метилбутанон 2	3,8
2	2 феноксиетанол	0,33	2	метилізопропенилкетон	12,0
3	тетрадекан	0,29	3	гексеналь	4,2
4	пирол 2,5 діон	0,12	4	2 гексеналь	2,0
5	додеканова кислота	0,25	5	фурфурол	14,5
6	ізопропиллаурат (домішка)	0,29	6	капринова кислота	4,7
7	кумарин	0,16	7	2 гексенова кислота	2,5
8	дигідроактинидіолід	0,32	8	бензальдегід	4,1
9	тетрадеканова кислота	0,33	9	бутиролактон	2,2
10	неофітадиєн	0,35	10	транс 2, 4 гептадиєналь	4,3
11	гексагідрофарнезиллацетон	0,21	11	бензиловий спирт	3,9
12	пальмітинова кислота	5,98	12	мальтол	10,5
13	лоліолід	0,32	13	внутрішній стандарт	3,5
14	фталаг	0,59	14	2 феноксиетанол	11,4
15	фітол	1,2	15	3 етил 4 метил 1 Н пирол 2, 5 діон	6,8
16	олеїнова кислота	0,2	16	3 етилен 4 метил 1 Н пирол 2, 5 діон	3,3
17	стеаринова кислота	0,79	17	2 метокси 4 вінилфенол	9,4
18	линолева кислота	1,05	18	кумарин	16,4
19	линоленова кислота	7,01	19	дигідроактинидіолід	11,2
20	пентакозан	0,22	20	3 окси β дамаскон	38,2
21	лупанин	0,69	21	6 метилкумарин	2,7
22	гептакозан	4,57	22	2 окси β дамаскон	5,1
23	фталаг	0,12	23	4 (3 окси 1 пропенил) 2 метоксифенол	5,1
24	неофітадиєн	0,13	24	ферулова кислота	1,5
25	нонакозан	2,41	25	грасхпер кетон	1,0
26	гентриаконтан	9,34	26	гексадеценева кислота	8,0
27	кемпестерол	0,75	27	пальмітинова кислота	19,3
28	стигмастерол	3,2	28	ізоліолід	3,3
29	γ ситостерол	0,13	29	лоліолід	33,5
30	β амірин	1,23	30	олеїнова кислота	3,5
31	лупеол	0,98	31	стеаринова кислота	1,1
32	α амірин	0,33	32	линолева кислота	0,5
			33	гептакозан	5,9
			34	сквален	1,6
			35	11, 12 дегідролупанин	3,6
Всього		44,55	Всього		261,1

Для ідентифікації компонентів використовували бібліотеку мас-спектрів NIST 05 та WILEY 2007 із загальною кількістю спектрів більш 470000 спільно з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST.

Для кількісних розрахунків використовували метод внутрішнього стандарту. Розрахунок вмісту (мг / 1000 г) компонентів проводили за формулою:

$$C = K_1 \cdot K_2,$$

де:

$K_1 = \frac{S_1}{S_2}$ (S_1 - площа піку досліджуваної речовини; S_2 - площа піку стандарту);

$K_2 = \frac{5n}{M}$ (50 - маса внутрішнього стандарту (мкг), введеного до зразку; M - наважка зразку (г).

Обговорювання результатів. Якісний склад і кількісний вміст біологічно активних сполук висушеної трави *L. luteus* L. (нативний витяг та витяг після проведення гідролізу розчиненою сульфатною кислотою) визначався газорідинною хроматографією з мас-спектрометричним детектуванням. Отримані результати наведено в таблиці 1.

При проведенні ГРХ-хроматографії екстракту з нативної сировини та після гідролізу її, відповідно було знайдено 64 сполуки (56 сполук). З них було ідентифіковано 31 сполуку (34 сполуки). За хімічною класифікацією компоненти екстракту з нативної сировини можна віднести до: вищих вуглеводнів – тетрадекан (0,29), неофітаден (0,35 + 0,13), пентакозан (0,22), гептакозан (4,57), нонакозан (2,41), гентріаконтан (9,34); у екстракту з гідролізованої сировини з цього класу знайдено тільки гептакозан (5,9). З групи терпеноїдів у нативній сировині були визначені: дигідроактинидіолід (0,32), гексагідрофарнезиллацетон (0,21), лоліолід (0,32), кемпестрол (0,75), стигмастерол (3,2), γ ситостерол (0,13), β амірин (1,23), лупеол (0,98), α амірин (0,33); у гідролізованій сировині ця група біологічно активних речовин представлена наступними речовинами: дигідроактинидіолід (11,2), 3 окси β дамаскон (38,2), 2 окси β дамаскон (5,1), гексадецена кислота (8,0), ізололіолід (3,3), лоілолід (33,5), сквален (1,6), 11,12 дегідролупанін (3,6). У сировині без проведення гідролізу міститься представник ароматичних вуглеводнів: феноксиетанол (0,33), після гідролізу збільшується кількість представників даної групи: бензальдегід (4,1), бензиловий спирт (3,9), 2 феноксиетанол (11,4), 2 метокси 4 вінілфенол (9,4), 4 (3 окси 1 пропеніл) 2 метоксифенол (5,1), ферулова кислота (1,5). Гідролізована сировина містить органічні

сполуки класу кетонів та альдегідів: 3 метилбутанон 2 (3,8), метилізопроненілкетон (12,0), гексеналь (4,2), 2 гексеналь (2,0), фурфурол (14,5), транс 2,4 гептадиеналь (4,3), 3 етил 4 метил 1 Н пірол 2, 5 діон (6,8), 3 етил 4 метил 1 Н пірол 2, 5 діон (3,3), грасхопер кетон (1,0). У негідролізованій сировині знайдені алкалоїд лупанін (0,69) та фталати (0,59 + 0,12). Жирні кислоти у нативній сировині були представлені додекановою (0,25), міристиновою (0,33), пальмітиновою (5,98), олеїною (0,2), стеариною (0,79), линолевою (1,05) та линоленою (7,01) кислотами. Для гідролізованої сировини було характерним такий набір жирних кислот: капринова (4,7), 2 гексенова (2,5), гексадецена (8,0), пальмітинова (19,3), олеїнова (3,5), стеаринова (1,1), линолева (0,5).

Сполук – похідних α пірону: кумарину у нативній сировині визначено 0,16 мг / %; у гідролізованій – кумарину практично у 100 раз більше – 16,4 мг / %; ідентифіковано та кількісно визначено 2,7 мг / % 6 метилкумарину.

Висновки:

1. Вперше було проведено газорідинну хроматографію з мас-спектрометричним детектуванням екстракту з нативної та гідролізованої сировини *Lupinus luteus* L.

2. За даними газорідинної хроматографії у негідролізованій сировині визначені 64 сполуки, з яких ідентифіковано 31 компонент; після гідролізу знайдено 56 сполук, з яких ідентифіковано 34 компоненти.

3. У сировині *L. luteus* L. у нативному і гідролізованому стані містився ряд біологічно активних речовин - жирні кислоти, сапоніни, спирти, кетони, похідні α пірону тощо.

4. Кумарину (вільний стан) у вивчаємому рослинному матеріалі містилось 0,16 мг%. Після проведення гідролізу сульфатною кислотою ідентифіковано два компоненти з класу справжніх кумаринів: кумарин (16,4 мг %) та 6-метилкумарин (2,7 мг %), що підтверджує перспективність вивчення представників родини бобові на присутність істинних кумаринів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Гусев Н.Ф. К вопросу о новых перспективных видах лекарственного растительного сырья в южных областях России / Н.Ф. Гусев, О.Н. Немерешина // Известия ОГАУ. - 2008 - № 3 (19). - С. 258 - 261.
2. Кьосев П.А. Полный справочник лекарственных растений. - М.: Эксмо, 2005. - 992 с.
3. Майсурия Н.А. Люпин / Н.А. Майсурия, Л.И. Атабекова - М.: Колос, 1974. - 463 с.
4. Немерешина О.Н. О некоторых аспектах рационального использования лекарственных растений Предуралья / О.Н. Немерешина, Н.Ф. Гусев, В.Н. Зайцева // Известия ОГАУ. - 2009. - № 2 (22). - С. 308 - 311.
5. Решетникова О.Д. Химический анализ биологически активных веществ лекарственного растительного сырья и продуктов животного происхождения: уч. пособие / М.Д. Решетникова, В.Ф. Левинова, А.В. Хлебников и др.; под ред. проф. Г.И. Олешко. - Пермь : 2004. - 335 с.
6. Hill A.F. Economic Botany. A textbook of useful plants and plant products. 2nd ed. / Hill A.F. - New York:

- McGraw Hill Book Company Inc, 1952. - 205 p.
7. Jigna P. Preliminary screening of some folklore medicinal plants from western India for potential antimicrobial activity / P. Jigna, N. Rathish, C. Sumitra // Indian J. Pharmacol. - 2005. - № 37. - P. 408 - 409.
8. Kenicer G.J. Systematic and biogeography of Lathyrus (Leguminosae) based on internal transcribed spacer and cpDNA sequence data / G.J. Kenicer, T. Kajita, R.T. Pennington, J. Murata // Am. J. of Botany. 2005. - Vol. 97. - P. 1199 - 1209.
9. Soetan K.O. Pharmacological and other beneficial effects of antinutritional factors in plants – a review / K.O. Soetan // African J. of Biotech. - 2008. - Vol. 7 (25) - P. 4713 - 4721.
10. Trease G. E.A Text Book of Pharmacognosy. / G.E. Trease, W.C. Evans - [16th ed.]. - London : Elsevier Health Science, - 2009. - 616 p.

Надійшла 17.12.2013 р.

Рецензент: проф. Л.В.Савченкова