

УДК 582.736.3:547.587.51]: 615

О.В. Гречана**ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ВИВЧЕННЯ ЗВ'ЯЗАНИХ КУМАРИНІВ У MEDICAGO FALCATA L. SUBSP. ROMANICA (PRODAN) О. SCHWARZ & KLINK***Запорізький державний медичний університет*

Гречана О.В. Фармакогностичне вивчення зв'язаних кумаринів у рослинній сировині medicago falcata l. Subsp. Romanica (prodan) o. Schwarz & klink // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 3. – С. 29-31.

Проводився аналіз даних фармакогностичного вивчення рослинної сировини надземної частини Medicago falcata L. subsp. romanica (Prodan) O. Schwarz & Klink. після проведення гідролізу. Метою роботи вважали визначення та кількісну характеристику компонентів з класу істинних кумаринів, що мають антикоагуляційну дію. Заготовляли рослину сировину в період масової вегетації. Висушували на протязі під навісом. Вперше було проведено газо-рідинне хроматографування з мас-спектрометричним детектуванням екстракту з сировини, що піддали попередньому гідролізу. Компоненти ідентифікували за допомогою бібліотеки мас - спектрів NIST. Для кількісних розрахунків використовували метод внутрішнього стандарту. Отримані дані свідчили про наявність 52 сполук, з яких ідентифіковано і кількісно охарактеризовано 41 компонент. При ідентифікації, екстракт з гідролізованої сировини Medicago falcata L. subsp. romanica (Prodan) O. Schwarz & Klink. містив ряд біологічно активних речовин первинного синтезу – спирти, альдегіди, кетони тощо. З класу істинних кумаринів у заготовлених надземних частинах люцерни посівної (син. румунської) після проведення гідролізу були ідентифіковані дигідрокумарин, кумарин та 6-метилкумарин у відповідних кількостях.

Ключові слова: кумарини, люцерна жовта, хроматографія

Гречаная Е.В. Фармакогностическое изучение связанных кумаринов в растительном сырье medicago falcata l. Subsp. Romanica (prodan) o. Schwarz & klink // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 3. – С. 29-31.

Проводили анализ данных фармакогностического изучения растительного сырья надземной части Medicago falcata L. subsp. romanica (Prodan) O. Schwarz & Klink. после проведения гидролиза. Целью работы считали определение и количественную характеристику компонентов из класса истинных кумаринов, обладающих антикоагулянтным действием. Заготавливали растительное сырье в период массовой вегетации. Высушивали в хорошо проветриваемом месте под навесом. Впервые было проведено газо - жидкостное хроматографирование с масс - спектрометрическим детектированием экстракта из сырья, которое подвергли предварительному гидролизу. Компоненты идентифицировали с помощью библиотеки масс - спектров NIST. Для количественных расчетов использовали метод внутреннего стандарта. Полученные данные свидетельствовали о наличии 52 соединений, из которых идентифицирован и количественно охарактеризован 41 компонент. При идентификации, экстракт из гидролизованного сырья Medicago falcata L. subsp. romanica (Prodan) O. Schwarz & Klink. содержал ряд биологически активных веществ первичного синтеза - спирты, альдегиды, кетоны и т.д. Из класса истинных кумаринов в заготовленных надземных частях люцерны посевной (син. румынской) после проведения гидролиза были идентифицированы дигидрокумарин, кумарин и 6-метилкумарин в соответствующих количествах.

Ключевые слова: кумарины, люцерна желтая, хроматография

Grechana O.V. The pharmacognostic studies of not free coumarin's in medicago falcata l. Subsp. Romanica (prodan) o. Schwarz & link // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 3. – С. 29-31.

The analyzed a data of pharmacognostic studying of raw materials of aerial parts of Medicago falcata L. subsp. romanica (Prodan) O. Schwarz & Klink. after hydrolysis. The aim of the work consider of definitions and quantitative characterization of components of the class of true coumarins with an anticoagulant action. The plant material was harvested during the period of the mass vegetation. The raw material was dried in a well-ventilated place under a canopy. We first performed gas - liquid chromatography with mass - spectrometry detector an extract of raw materials, which preliminarily hydrolyzed. Components were identified by the mass - spectra's library NIST. The calculation of quantitative was used the internal standard method. These investigations indicate the presence of 52 compounds, of which was identified 41 components. The extract of hydrolyzed the raw materials of Medicago falcata L. subsp. romanica (Prodan) O. Schwarz & Klink. contained a number of biologically active substances of the primary synthesis - alcohols, aldehydes, ketones, etc. From the true coumarins class in harvested aerial parts of alfalfa (syn. romanica) after hydrolysis were identified dihydrocoumarin, coumarin, 6-methylcoumarin at appropriate amounts.

Key words: coumarins, alfalfa yellow, chromatography

Люцерна (Medicago L.) — рід однорічних та багаторічних трав або напівчагарників з родини Бобових (Fabaceae L.) [11].

Люцерна - одна з найбільш продуктивних та цінних кормових культур, що здатна у багатьох регіонах допомогти вирішити проблему усунення дефіциту рослинного білку в тваринному раціоні. Завдяки своєму підвищеному рівню екологічної пластичності та довго-

тривалості, протягом кількох десятків років здатна давати високі врожаї насіння та зеленої маси високої якості [3, 4].

Листя люцерни, багаті на мінеральні та істотні поживні речовини, араби називали al-fac-facah, что означає "батько всієї їжі". Іспанці скоротили її на alfalfa, що водночас є англійським варіантом назви рослини.

Люцерна – вельми поліморфний рід. Ми-

ровий асортимент представлений 61 видом. На території України зустрічається 24 види, серед яких присутні однорічні, дворічні, багаторічні та змішані. Між рослин України цього роду зустрічається кілька видів ендеміків. Найбільшу розповсюдженість мають люцерна посівна (синя) – *Medicago sativa* L., люцерна серпоподібна (жовта) – *Medicago falcata* L. та люцерна середня (мінлива) – *Medicago varia* L [5,8].

В Україні під люцерною зайнято близько 142 тисяч гектарів, розосереджених по 15 областям, де лідирує Черкаська область (майже 15% всіх посівів досліджуваної рослини).

Люцерну використовують у сільському господарстві як корм для худоби; її заготовляють на сіно і роблять з неї січне борошно [5].

Листя та плоди люцерни містять мінеральні елементи (калій, кальцій, фтор та ін), різні вуглеводи, білки, жирні кислоти, ефірні олії, пектини, рослинні стероїди, ферменти, хлорофіл, алкалоїди, гормоноподібні речовини, каротин [1,9,10].

У народній медицині рослину застосовують при захворюваннях кишечника, шлунка, щитовидної залози, для поліпшення обміну речовин, нормалізації стану кровоносної системи, зниження рівня холестерину, підвищення рівня гемоглобіну в крові [6,7,12].

Люцерна є одним з компонентів біологічно активних добавок до їжі американських компаній NutriCare International, CaliVita International («Spirulina Chlorella Plus»), Life Production (препарат «Green Care»), «Антихолінестерин», «Ерамін», «Альфа герб», порошки «Хлорофіл люцерни» виробництва Росії та ін.

Фітоконцентрати люцерни посівної вико-

ристовуються у засобах догляду за шкірою.

Деякі види використовують як декоративні та лікарські (*Medicago sativa*, *Medicago falcata*) рослини [5, 8].

При популярності, широкому поширенні і використанні рослин визначеного роду, немає наукових комплексних робіт з вивчення вмісту групи сполук істинних кумаринів та їх 4-оксипохідних, присутність яких має бути характерною для даної триби.

Матеріали і методи дослідження. Рослинний матеріал (траву) заготовляли у період активного цвітіння рослини – (травень – червень) у передмісті Запоріжжя (сміт Приморське). Висушували на протязі під навісом.

Вивчення сировини, після попередньо проведеного кислотного гідролізу, проводили за допомогою хроматографа Agilent Technologies з мас-спектрометричним детектуванням. Газ – носій – гелій. Хроматографічна колонка - капілярна зі внутрішнім діаметром 0,25 мм і завдовжки 30 м. Для ідентифікації компонентів використовували бібліотеку мас-спектрів спільно з програмами для ідентифікації NIST [1, 2].

Для кількісних розрахунків використовували метод внутрішнього стандарту [3].

Розрахунок вмісту (мг/kg) компонентів проводили за формулою:

$$C = K_1 \cdot K_2,$$

де:

$K_1 = S_1 / S_2$ (S_1 - площа піку досліджуваної речовини; S_2 - площа піку стандарту).

$K_2 = 50 / M$ (50 - маса внутрішнього стандарту (мкг); M - наважка зразку (г)).

Таблиця 1. Компонентний склад після гідролізу сировини *Medicago falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink., що заготовлено у Запорізькій обл., смт Приморське (травень-червень) 2010 – 2013рр.

№ з/п	Компонент	Кількість (%)	№ з/п	Компонент	Кількість (%)
1	3 метилбутанон 2	0,20	21	мальтол	0,51
2	метилізопропенілкетон	0,43	22	кетозофрон	0,05
3	гексаналь	0,10	23	пара оксиацетофенон	0,06
4	ізовалеріанова кислота	0,15	24	2 феноксиетанол	0,46
5	2 гексеналь	0,07	25	3 етил 4 метил 1Н пірол 2,5 діон	0,55
6	фурфурол	0,28	26	саліцилова кислота	0,89
7	капронова кислота	0,33	27	2 метокси 4 вінілфенол	0,13
8	транс 2 гептеналь	0,03	28	метил пара оксибензоат	0,10
9	2 гексенова кислота	0,07	29	дигідрокумарин	4,95
10	бензальдегід	0,19	30	ванілін	0,23
11	бутиролактон	0,07	31	9 оксононанова кислота	0,68
12	5 метилфурфурол	0,01	32	кумарин	79,38
13	2,4 гептадиеналь	0,03	33	дигідроактинидіолід	0,72
14	бензиловий спирт	0,07	34	3 окси β дамаскон	2,96
15	саліциловий альдегід	0,54	35	6 метилкумарин	0,39
16	фенілацетальдегід	0,14	36	2 окси β дамаскон	0,34
17	6 метил 3,5 гептадиен 2 он	0,02	37	пальмітинова кислота	0,23
18	γ капролактон	0,03	38	ізоліолід	0,14
19	каприлова кислота	0,11	39	4 окси 3,5,5 триметил 4 (3 оксо 1 бутеніл) 2 циклогексен 1 он	0,11
20	β фенілетилловий спирт	0,08	40	лоліолід	0,82
			41	нонакозан	0,16
		Всього			91905

Обговорення результатів. Дані, що були отримані для зв'язаних кумаринів, подані у таблиці 1.

При проведенні ГРХ-хроматографії було знайдено 52 сполуки. З них було ідентифіковано 41 сполуку.

Звертають на себе увагу присутність не визначавшихся без проведення гідроліза компонентів – саліцилового альдегіда та саліцилової кислоти (відповідно – 0,54 % та 0,89 %), широкий асортимент спиртів: бензиловий спирт, β фенилетиловий спирт, 2 метокси 4 вінілфенол, 2 феноксиетанол; альдегідів: гексаналь, 2 гексеналь, транс 2 гептеналь, бензальдегід, 5 метилфурфурол, 2,4 гептадиеналь, фенилацетальдегід, ванілін; кетонів: 3 окси β дамаскон (2,96 %), 2 окси β дамаскон, 3 метилбутанон 2, кетоізофорон, мальтол, пара оксиацетофенон, метилізопропенілкетон, γ капролактон, 6 метил 3, 5 гептадиен 2 он, 3 етил 4 метил 1Н пірол 2, 5 діон.

Сполук з класу істинних кумаринів в заготовлених надземних частинах люцерни посів-

ної (син. румунської) після гідролізу було ідентифіковано 3 найменування - кумарин (79,38%), дигідрокумарин (4,95%) та 6 метилкумарин (0,39%).

Висновки:

1. Вперше було проведено хроматографію з мас-спектрометричним детектуванням сировини *Medicago falcata L. subsp. romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink. після проведення гідролізу

2. За даними газо-рідинної хроматографії визначено 52 сполуки, з яких ідентифіковано 41 компонент.

3. У сировині *Medicago falcata L. subsp. romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink. у гідролізованому вигляді містився ряд біологічно активних речовин первинного синтезу – спирти, альдегіди, кетони.

4. З класу істинних кумаринів у заготовлених наземних частинах люцерни посівної (син. румунської) після гідролізу були ідентифіковані: дигідрокумарин, кумарин та 6 метилкумарин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. **Гречана О.В.** Зв'язані кумарини у траві *Lupinus luteus L.* Матеріали X Міжнародної науково-практичної конференції “Moderni vymozenosti vedi-2014”, 27.03-05.04 2014. Praha: С. 20-22.
2. **Гречана О. В.** Метрологічне та нормативно-технічне забезпечення методик виявлення та визначення лікарських засобів, похідних кумарину. / Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики 2013; 2(12, Додаток): С. 41-44.
3. **Гречана О. В.** Фармакогностичні дослідження зв'язаних кумаринів у траві *Lupinus luteus L.* Матеріали міжнародної науково-практичної конференції SWorld «Перспективні інновації в науку, освіту, виробництво і транспорт»: тези докл. Міжнарод. конф. 22.11.2013 413-0222. 53: С. 3-5.
4. **Петрук В. А.** Продуктивність люцерни на корм і семена. / Аграрная наука 2008; 2: С. 16-18.
5. **Харченко Г. Л., Рябчинская Т. А., Саранцева Н. А. [и др.]** Пути повышения продуктивности люцерны. Защита и карантин растений 2008; 5: С. 36-37.
6. **Cieśla Ł., Kowalska I., Oleszek W. et al.** Free Radical Scavenging Activities of Polyphenolic Compounds Isolated from *Medicago sativa* and *Medicago truncatula* Assessed by Means of Thin-layer Chromatography DPPH Rapid Test. / Phytochemical Analysis 2013; 24(1): P. 47-52.
7. **Ebrahimzadeh M. A., Pourmorad F., Bekhradnia A. R.** Iron chelating activity screening, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. / African J Biotechnology 2008; 7(18): P. 3188-92.
8. **Kancheva V. D., Boranova P. V., Nechev J. T. [et al.]** Structure-activity relationships of new 4-hydroxy bis-coumarins as radical scavengers and chain-breaking antioxidants. / Biochimie 2010; 92(9): P. 1138-46.
9. **Kowalska I., Stochmal A., Kapusta I., Janda B., Pizza C., Piacente S. [et al.]** Flavonoids from barrel medic (*Medicago truncatula*) aerial parts. / J Agric Food Chem 2007; 55: P. 2645-2652.
10. **Mirzaei A., Abbasi M., Sepehri S., Mirzaei M.** The Effects of *Allium porrum* and *Medicago sativa* on Iron Concentration in Thalassemia Serums. / Life Sci J 2013; 10(11): P. 27-31.
11. **Trease G. E.** A Text Book of Pharmacognosy. / G. E. Trease, W. C. Evans - [16th Edn.]. - London : Elsevier Health Science - 2009. – 616 p.
12. **Stochmal A., Kowalska I., Janda B., Perrone A., Piacente S., Oleszek W.** Gentisic acid conjugates of *Medicago truncatula* roots. / Phytochemistry 2009; 70(10): P. 1272-76.

Надійшла 17.03.2014 р.

Рецензент: проф. Л.В. Савченкова