

В.И. Мозуль¹, В.С. Доля¹, И.Е. Цокало²

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛОФАНТА АНИСОВОГО

¹Запорожский государственный медицинский университет

²Крымский государственный медицинский университет им. С.Г. Георгиевского

Ключевые слова: лопант анисовый, эфирное масло, фенольные соединения, газожидкостная хроматография

В результате фитохимического изучения лопанта анисового установлены: флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, кумарины, эфирные масла, определены их физико-химические показатели. Количественное содержание эфирного масла составляет 0,79%. Методом газожидкостной хроматографии в эфирном масле лопанта анисового идентифицированы 26 компонентов. Основными из них являются метилхавикол (44, 91%), метилэвгенол (38,11%), лимонен (6,18%). Изучена динамика накопления эфирного масла в сырье лопанта анисового, максимальное содержание его отмечено в фазу начала созревания семян. Установлена антимикробная активность эфирного масла лопанта анисового.

Поиск новых источников получения эфирных масел с целью расширения сырьевой базы для фармацевтической промышленности является в настоящее время актуальным. Почвенно-климатические условия Крыма благоприятны для произрастания перспективных растений эфирномасличных культур и в частности лопанта анисового [1,4].

Лопант анисовый (*Lophanthus anisatum* Benth.) семейства яснотковые (*Lamiaceae*) встречается на Дальнем Востоке и в Средней Азии, Америке, на небольших площадях возделывается в Молдове и в Крыму [3].

Препараты лопанта способствуют повышению иммунитета, применяются при нервных расстройствах, при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, болезнях печени и мочевыводящих путей, при лечении бронхиальной астмы, острых респираторных заболеваний, пневмонии, бронхитов [1,3,5]. В монгольской медицине надземную часть растения используют в лечении при параличах лицевого нерва, парезах, дрожании конечностей [4].

Химический состав биологически активных веществ лопанта анисового в настоящее время изучен недостаточно.

Цель исследования – определение качественно и количественного состава биологически активных соединений лопанта анисового.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований была надземная часть растения, срезанная в различные фазы вегетации на уровне олиственной части стебля. Определение количества эфирного масла проводилось в пятикратной повторности по методу Гинзберга. Анализ эфирных масел проводили в соответствии с требованиями методов контроля и качества [2]. Качественный состав эфирного масла и количественное содержание компонентов в нем определяли методом газожидкостной хроматографии. Исследования проводили на приборе "Биохром" на стальной колонке длиной 250см, диа-

метром 0,3 см, носитель Хроматон-N-AW-DMCS, 0,200-0,250мм, неподвижные фазы в количестве 3-5% (Карбовакс 20М, ХЕ-60), газ-носитель азот, скорость потока 40см³/мин, температура колонки 100-220°C. Идентификацию компонентов осуществляли путем введения в пробу масла заведомо известных соединений и по относительному времени удерживания. Содержание компонентов определяли методом внутренней нормализации.

Для выделения фенольных соединений 100,0 травы лопанта многократно экстрагировали 80%-ным спиртом этиловым до полного истощения сырья. Извлечение упаривали под вакуумом, охлаждали и последовательно экстрагировали органическими растворителями: хлороформом, этилацетатом, бутанолом. Для обнаружения гидроксикоричных кислот использовали этилацетатную фракцию. Определение проводили путем хроматографирования на бумаге в системе растворителей: 2%-ный раствор кислоты уксусной. Хроматограммы обрабатывали 1%-ным спиртовым раствором хлорида окисного железа, диазотированным *p*-нитроанилином.

Флавоноиды определяли в этилацетатных фракциях с помощью цианидиновой пробы, с 2%-ным раствором алюминия хлорида, с 10%-ным раствором натрия гидроксида. Также использовали хроматографию на бумаге в системе растворителей: 15%-ный раствор кислоты уксусной, бензол - этилацетат - уксусная кислота (50:50:1) с использованием для проявления специфических реактивов: пары аммиака, 10%-ный раствор натрия гидроксида в спирте этиловом. Хроматограммы просматривали в УФ-свете до и после обработки хромогенными реактивами. Обнаружение кумаринов проводили в хлороформных фракциях методом тонкослойной хроматографии с использованием системы растворителей: бензол - этилацетат (2:1). Количественное содержание гидроксикоричных кислот определяли методом спектрофотометрии, кумаринов – хроматоколоримет-

рическим методом. Сумму флавоноидов определяли разработанными нами спектрофотометрическим методом.

Железистые структуры подсчитывали на временных препаратах листьев лофанта анисового. Листья отбирались с 1-го по 10-ый побеги по мере их формирования. Плотность эфирномасличных железок определяли на микроскопе МББ-ТА с помощью окулярной сетки ($S = 0,64\text{мм}^2$), на нижней поверхности листьев. Подсчитывалось по 30 участков на каждом листе.

Для изучения антимикробной активности эфирного масла лофанта анисового использовали диско-диффузный метод с индикаторными тест-штампами следующих микроорганизмов: *Echerichia coli* 675, *Staphylococcus aureus* 209, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus anthracoides* 1312, *Enterococcus faecalis*, *Serratia marcescens*, а также дрожжеподобные грибы *Candida albicans*. Бактерии культивировались в бульоне Хоттингера (рН 7,2-7,4). В эксперименте использовали суточные культуры микроорганизмов. Оценку результатов исследования проводили измерением зон задержки роста микроорганизмов вокруг дисков.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Эфирное масло – легкоподвижная, слегка желтоватая жидкость с тонким приятным ароматом. Максимальное количество эфирного масла обнаружено в фазу массового цветения – начало образования семян и составило $0,79 \pm 0,02\%$. Полученное эфирное масло характеризовалось следующими физико-химическими показателями: плотность – 0,914; показатель преломления (n_D^{20}) – 1,4854; оптическая активность (L_D^{20}) – 12,5°; кислотное число – 87,4; эфирное число – 13,2; эфирное число после ацетилирования – 91,65.

Методом газожидкостной хроматографии в эфирном масле лофанта анисового обнаружено 26 компонентов (табл. 1). В наибольших количествах идентифицированы: метилхавикол (44,90%), метилэвгенол (38,11%), лимонен (6,18%). Значительно меньше обнаружены: кариофиллен (1,92%), кадинен (1,45%), камфен (1,12%), элемен (0,84%), эвгенол (0,52%), ментон (0,51%), цитронеллол (0,50%). Содержание остальных компонентов: мирцен, гераниол, октанон – 3, сабинен, оцимен, линалоол, карвон, пинен, борнеол, терпинен, пулегон, тимол, анетол, цинеол, нерол, 1 неидентифицированный компонент колеблется от 0,1 до 0,5%.

При изучении строения железистых образований у лофанта анисового обнаружены два типа железистых структур: двухклеточные железистые волоски и многоклеточные эфирномасличные железки, которые относятся к экзогенным железистым образованиям эпидермального происхождения. Железистые волоски состоят из одноклеточной ножки и одной секре-

Таблица 1

Качественный и количественный состав эфирного масла лофанта анисового

№	Соединение	Содержание, %
1	Сабинен	0,13
2	Мирцен	0,21
3	Лимонен	6,18
4	Оцимен	0,28
5	Октанон - 3	0,19
6	Камфен	1,12
7	Ментон	0,51
8	Цинеол	0,35
9	Линалоол	0,1
10	Кариофиллен	1,92
11	Метилхавикол	44,90
12	Кадинен	1,45
13	Элемен	0,81
14	Цитронеллол	0,58
15	Нерол	0,29
16	Карвон	0,35
17	Гераниол	0,21
18	Метилэвгенол	38,11
19	Анетол	0,30
20	Эвгенол	0,52
21	Тимол	0,10
22	Пулегон	0,21
23	Терпинен	0,23
24	Пинен	0,21
25	Борнеол	0,43
26	Не идентиф.	0,30

торной клетки. Многоклеточные железки состоят из 8 секреторных клеток, покрытых слоем кутикулы. Установлено, что максимальное количество эфирномасличных железок расположены на нижней стороне листьев лофанта. Наибольшее их количество находится у основания листа, а в средней и апикальной его части их меньше. Распределение железок на разновозрастных листьях растений различно. Установлено, что максимальная плотность железок обнаружена на молодых листьях верхних ярусов и уменьшается сверху вниз. На мелких верхушечных листьях лофанта (8 пара) находится в среднем $21,75/\text{мм}^2$ эфирномасличных железок, на нижних крупных листьях (2 пара) – $3,27/\text{мм}^2$. Установление корреляции между масличностью и количеством железок является актуальным вопросом для разработки методических подходов в селекционной работе с таким перспективным растением как лофант анисовый.

Изучена динамика накопления эфирного масла в различных органах лофанта анисового по фазам вегетации. Установлено, что в траве лофанта содержание эфирного масла оказалось наибольшим в фазу начала созревания семян ($0,79 \pm 0,02\%$), наименьшим



– в фазу массового созревания семян ($0,23 \pm 0,08\%$). Изучение качественного состава эфирного масла лопанта анисового показало, что содержание основного компонента метилхавикола в масле лопанта анисового уменьшалось в фазу массового цветения. В фазу начала созревания семян этот показатель возрос до $44,91 \pm 0,01\%$, а в фазу массового созревания семян уменьшился до $21,73 \pm 0,11\%$.

Количественное содержание суммы флавоноидов в траве лопанта в период массового цветения составляет $1,91 \pm 0,04\%$, гидроксикоричных кислот – $2,27 \pm 0,01\%$, кумаринов – $0,93 \pm 0,02\%$.

Проведенные микробиологические исследования показали, что эфирное масло лопанта анисового имеет антимикробную активность на все индикаторные культуры тест-микроорганизмов. Наиболее выраженный эффект проявляется в отношении штаммов: *Echerichia coli* 675, *Staphylococcus aureus* 240, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости дальнейшего фармакогностического изучения лопанта анисового как потенциального источника биологически активных веществ и фитопрепаратов.

ВЫВОДЫ

1. Лопант анисовый является ценным источником биологически активных веществ: флавоноидов, гидроксикоричных кислот, кумаринов, эфирных масел.

2. Методом газожидкостной хроматографии установлены качественный и количественный состав эфир-

ного масла лопанта анисового. В наибольших количествах идентифицированы: метилхавикол ($44,90\%$), метилэвгенол ($38,11\%$), лимонен ($6,18\%$).

3. Изучена динамика накопления эфирного масла в траве лопанта анисового. Максимальное содержание и наличие в нем основных компонентов отмечено в фазу начала созревания семян. Плотность эфирномасличных железок зависит от размещения их на разноярусных листьях и увеличилась снизу вверх по оси побега.

4. Эфирное масло лопанта анисового проявляет антимикробную активность в отношении штаммов: *Echerichia coli* 675, *Staphylococcus aureus* 240, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Войткевич С.А. Эфирные масла для парфюмерии и ароматерапии. - М.: Пищевая промышленность, 1999. - С. 165-168.
2. Державна Фармакопея України. -1-е вид. -Харків:PIPEГ, 2001.-556с.
3. Машанов В.И., Андреева Н.Ф., Машанова Н.С. Новые эфирномасличные культуры: Справ. изд. - Симферополь: Таврия, 1988. - 160 с.
4. Назаренко Л.Г., Бугаенко П.А. Эфирномасличные, пряно-ароматические и лекарственные растения. - Симферополь: Таврия, 2003. - 202с.
5. Солдатченко С.С., Белоусов Е.В., Пидасв А.В. Ароматерапия. - К.: Здоров'я, 2001.-480 с.

Поступила 17.12.2007г.

В.І. Мозуль, В.С. Доля, І.Є. Цокало

Фітохімічне вивчення лопанта анисового

В результаті фітохімічного дослідження трави лопанта анисового ідентифіковано флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, кумарини, ефірні олії, визначені їх фізико-хімічні показники. Кількісний вміст ефірної олії становить $0,79\%$. Методом газорідинної хроматографії в ефірній олії лопанта анисового ідентифіковано 26 компонентів. Основними з них являються: метилхавікол ($44,90\%$), метилевгенол ($38,11\%$), лимонен ($6,18\%$). Досліджена динаміка накопичення ефірної олії, максимальний вміст її в сировині лопанта анисового відмічено в фазі початку досягання насіння. Встановлена антимікробна активність ефірної олії лопанта анисового.

Ключові слова: лопант анисовий, ефірна олія, фенольні сполуки, газорідинна хроматографія

V.I. Mozul, V.S. Dolya, I.Ye. Tsokalo

Prospects of phytochemical research of *Lophanthus anisatum* Benth

Flavonoids hydroxycinnamic acids, coumarins, etheric oils have been identified in the *Lophanthus anisatum* Benth. Etheric oil quantitative content equals $0,79\%$. 26 components of the physico-chemical indexes have been identified in etheric oil of *Lophanthus anisatum* Benth; by the method of gaseous liquid chromatography. Basic components are Methylchavicol ($44,91\%$), Methylchavicol ($38,11\%$), limonene ($6,18\%$). The dynamic accumulation of etheric oil was studied. The maximum content of etheric oil in raw *Lophanthus anisatum* Benth. has been determined during the ripening of the seeds. Antimicrobial activity of *Lophanthus anisatum* was identified.

Key words: *Lophanthus anisatum* Benth., etheric oil, Phenolom compounds, gaseous liquid chromatography

Сведения об авторах:

Мозуль В.И., к.фарм.н., доцент кафедры фармакогнозии ЗГМУ;

Доля В.С., д.фарм.н., заведующий кафедрой фармакогнозии ЗГМУ;

Цокало И.Е. ассистент кафедры фармацевтических дисциплин КГМУ.

Адрес для переписки:

Мозуль В.И., 69035, г Запорожье, пр. Маяковского 26, ЗГМУ, кафедра фармакогнозии с курсом ботаники.

Тел.: (0612) 34-23-31