



О.Б. Наріжна, О.В. Криворучко, В.М. Ковальов

Аналіз ліпофільних екстрактів листя черемхи звичайної та черемхи віргінської

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: черемха звичайна (*Padus avium*), черемха віргінська (*Padus virginiana*), ліпофільні екстракти, жирні кислоти.

Ключевые слова: черемуха обыкновенная (*Padus avium*), черемуха виргинская (*Padus virginiana*), липофильные экстракты, жирные кислоты.

Key words: Bird cherry (*Padus avium*), Chokecherry (*Padus virginiana*), lipophilic extracts, fatty acids.

З листя черемхи звичайної (*Padus avium*) і черемхи віргінської (*Padus virginiana*) методом вичерпної екстракції хлороформом в апараті Сокслет отримано ліпофільні екстракти, в яких визначено кількісний вміст жирних кислот, ізопреноїдів, фенольних сполук, а також деякі хімічні числові показники.

Из листьев черемухи обыкновенной (*Padus avium*) и черемухи виргинской (*Padus virginiana*) методом исчерпывающей экстракции хлороформом в аппарате Сокслет получены липофильные экстракты, в которых определено количественное содержание жирных кислот, изопреноидов, фенольных соединений, а также некоторые химические числовые показатели.

Lipophilic extracts from leaves Bird cherry (*Padus avium*) and Chokecherry (*Padus virginiana*) is obtained by method of depleting extraction by chloroform in the Soxhlet apparatus. The quantitative contents of fatty acids, isoprenoids and phenolic compounds, and also chemical numeric indexes of lipophilic extracts have been determined.

Останнім часом у медичній практиці все частіше використовують лікарські засоби, що містять ліпофільні рослинні екстракти, основними діючими речовинами яких є ліпіди, вітаміни, ефірні олії, фенольні сполуки та інші компоненти. Ці засоби виявляють жарознижувальну, протизапальну, противиразкову, болетамуючу, протиопікову, ранозагоюючу, протипухлинну, протиалергічну, противірусну, антисклеротичну дію [1,8–11]. З джерел наукової літератури відомо, що плоди та листя черемхи звичайної (*Padus avium* L., *Padus racemosa* (Lam.) Gilib., *Prunus padus* L.) та черемхи віргінської (*Padus virginiana* (L.) Mill.) з родини розові (*Rosaceae*) містять флавоноїди, дубильні речовини, вітаміни, вуглеводи, органічні кислоти, ефірну олію, макро- і мікроелементи та мають в'язучу, антимікробну, протизапальну дію. Автори проводять фармакогностичне дослідження основних груп біологічно активних речовин листя черемхи звичайної та черемхи віргінської [2,6,7].

Мета роботи

Отримання ліпофільних екстрактів з листя черемхи звичайної і черемхи віргінської та їх дослідження.

Матеріали і методи дослідження

Для отримання ліпофільних екстрактів у травні 2009 року в ботанічному саду Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна заготовлено листя черемхи звичайної та черемхи віргінської. Висушену й подрібнену сировину вичерпно екстрагували хлороформом в апараті Сокслет і упарювали до повного видалення екстрагенту. Вихід ліпофільних речовин з листя черемхи звичайної склав 9,13%, з листя черемхи віргінської – 11,9%. Отримані екстракти являють собою густу однорідну темно-зелену масу зі специфічним запахом, яка практично не розчиняється у воді, розчиняється у спирто-ефірній суміші (1:1) при нагріванні, помірно розчиняється у гексані, ацетоні й хлороформі.

Хімічні числові показники ліпофільних екстрактів з

листя черемхи звичайної та черемхи віргінської (кислотне число, число омилення, ефірне число) визначали за фармакопейними методиками [3].

Кількісний вміст жирних кислот у ліпофільних екстрактах листя черемхи звичайної та черемхи віргінської визначали методом газорідної хроматографії на хроматографі з полум'яно-іонізаційним детектором «Shimadzu GC-14B» згідно інструкції. Умови хроматографування: капілярна кварцова колонка 30 м x 0,25 мм HP-225 0,25 мкм, стаціонарна фаза ціанопропіл – метилсилоксан (1:1), швидкість газу-носія (водню) – 1,8 мл/хв; ділення потоку 1:70; температуру 175°C витримували 5 хв, потім підвищували її зі швидкістю 2°C/хв до 225°C і витримували протягом 10 хв; температура інжектора – 240°C, детектора – 250°C; розчинник – циклогексан [4].

Хромато-мас-спектрометричний аналіз екстрактів проводили на хроматографі Agilent Technologi 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. Умови аналізу: хроматографічна колонка кварцова, капілярна. Довжина колонки – 30 метрів. Внутрішній діаметр – 0,25 мм. Газ-носієй – гелій. Швидкість газу-носія – 1 мл/хв. Об'єм проби – 0,1–0,5 мкл. Введення проби с діленням потоку – 1/50. Температура детектора і випарника – 250°. Компоненти речовин ідентифікували порівнянням результатів, отриманих у процесі хроматографування мас-спектрів хімічних речовин, з даними бібліотеки мас-спектрів NIST02. Час утримування компонентів розраховували за результатами контрольних аналізів ефірних олій з додаванням суміші нормальних алканів (C-10 – C-18) [6].

Подальше дослідження хімічного складу ліпофільних екстрактів черемхи звичайної та черемхи віргінської проводили під керівництвом к. хім. н., ст. наук. співр. НДІ хімії при Харківському Національному університеті ім. В.Н. Каразіна О.Д. Рошала методом тривимірної скануючої спектрофлуориметрії (3DF-спектроскопії). 3DF-спектри у вигляді «поверхні», що характеризується функцією $I=f(\lambda_{exc}, \lambda_{em})$, реєстрували в УФ- і видимому

діапазонах за допомогою спектрофлуориметра Hitachi F4010. Виміри проводили в діапазонах збудження (λ_{exc}) і випромінювання (λ_{em}) від 220 до 800 нм, з кроком сканування 10 нм. Подальшу обробку записів з побудовою тривимірних графіків проводили за допомогою програмного пакету Spectra Data Lab. Цей метод дозволяє зробити висновки про якісний склад досліджуваних об'єктів. Визначення кількісного вмісту каротиноїдів і хлорофілів у ліпофільних екстрактах проводили за загальновідомими методиками на спектрофотометрі Hitachi U3210 [5].

Результати та їх обговорення

Встановлено деякі хімічні числові показники ліпофільних екстрактів з листя черемхи звичайної: кислотне число – 4,6; число омилення – 124,0; ефірне число – 119,4 та черемхи віргінської: 4,10; 122,15 і 118,34 відповідно.

Оскільки значну частину рослинних ліпофільних екстрактів складають жирні кислоти, проведено їх кількісне визначення. Як видно з результатів дослідження (табл. 1), в екстракті листя черемхи звичайної визначено 6 жирних кислот: 3 насичених (пальмітинова, стеаринова, бегенова) і 3 ненасичених (олеїнова, лінолева, α -ліноленова), з них переважають пальмітинова (27,43%) і α -ліноленова (39,29%) кислоти; у меншій кількості міститься лінолева кислота (10,53%). Незамінними є лінолева і α -ліноленова кислоти. В екстракті листя черемхи віргінської визначено 5 жирних кислот: 2 насичених (пальмітинова, стеаринова) і 3 ненасичених (олеїнова, лінолева, α -ліноленова), з яких переважають пальмітинова (33,78%) та α -ліноленова (29,03%) кислоти. Також у значній кількості в екстракті міститься α -ліноленова кислота (16,0%). Ті ж жирні кислоти переважають в олії, отриманій з кісточок черемхи звичайної [10].

Жирнокислотний склад ліпофільних екстрактів листя черемхи звичайної та черемхи віргінської

Назва кислоти	Загальна формула	Вміст, % від суми	
		Черемха звичайна	Черемха віргінська
Пальмітинова	C 16:0	27,43	33,78
Стеаринова	C18:0	4,67	6,12
Олеїнова	C18:1n9	5,42	4,67
Лінолева	C18:2	10,53	16,0
α -Ліноленова	C18:3n9-15	39,29	29,03
Бегенова	C22:0	3,06	
Сума ненасичених кислот		55,24	49,70
Сума насичених кислот		35,16	39,95

Методом хромато-масс-спектроскопії у хлороформному екстракті листя черемхи звичайної встановлено наявність ізопреноїдів: сквалену (27,55%), фітолу (5,44%), неофітодієну (3,41%), дигідроактинідіоліду (0,74%), гексагідрофарнезиллацетону (0,33%), 3-окси- β -дамаскону (0,26%), β -іону (0,23%), геранілацетону (0,16%); фенольних сполук: α -оксифенілоцтової кислоти (13,99%), бензойної кислоти (3,39%), 4-((1E)-3окси-1-пропеніл)-2-метоксифенолу (2,34%), α -токоферолу (1,62%), бензальдегіду (1,44%), β -фенілетилового спирту (0,38%), бензилового спирту (0,31%), фенілоцтової кислоти (0,21%); жирних кислот: *транс*-2-гексенової (6,51%), пальмітинової (2,07%), капронової (1,11%), *транс*-3-гексенової (0,28%) та міристинової (0,2%) кислот. Хроматограму летких речовин ліпофільного екстракту листя черемхи звичайної наведено на рис. 1.

Тим же методом у хлороформному екстракті з листя

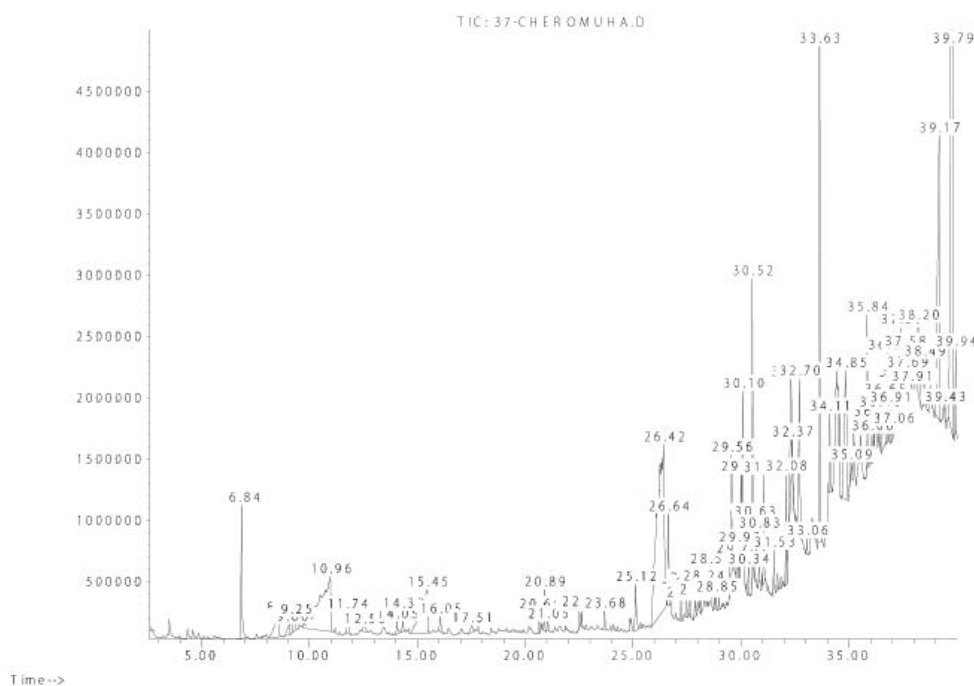


Рис. 1. Хроматограма летких речовин ліпофільного екстракту листя черемхи звичайної.

черемхи віргінської встановлено наявність ізопреноїдів: фітолу (2,64%), 8-оксиліналоолу (0,92%), неофітадієну (0,53%), дигідроактинідіоліду (0,48%); стеролу: β -ситостеролу (6,6%); фенольних сполук: α -фенілоцтової кислоти (5,76%), β -токоферолу (3,46%), бензальдегіду (3,25%), бензилового спирту (0,58%), β -фенілетилового спирту (0,12%), етилбензоату (0,14%); жирних кислот та їх естерів: пальмітинової кислоти (20,64%), етилліноленату (8,93%), етиллінолеату (5,8%), етилстеарату (3,49%), пеларгонової (0,17%) та лауринової (0,16%) кислот. У складі досліджуваних екстрактів встановлено наявність також деяких алканів та алкенів.

У результаті досліджень встановлено, що вміст каротиноїдів у ліпофільному екстракті листя черемхи звичайної та черемхи віргінської у перерахунку на β -каротин складає 325,39 мг/г і 343,74 мг/г відповідно. Вміст хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А у ліпофільному екстракті листя черемхи звичайної та черемхи віргінської складає 511,80 мг/г та 590,83 мг/г відповідно.

Для зразка ліпофільного екстракту з черемхи звичай-

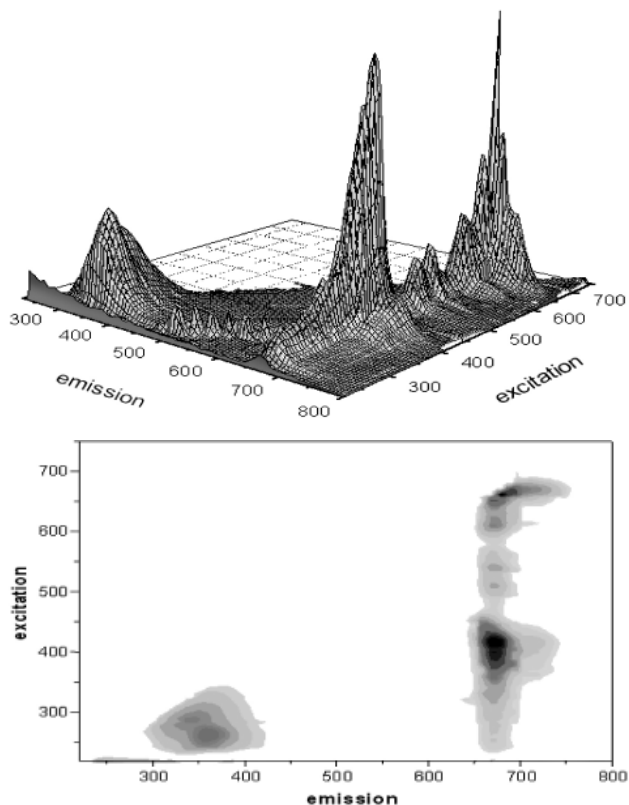


Рис. 2. Тривимірний спектр флуоресценції ліпофільного екстракту листя черемхи звичайної та його проекція на площину збудження/випромінювання.

ної (рис. 2) характерні максимуми поглинання в областях $\lambda_{exc}=250-270$ нм і $\lambda_{em}=360-380$ нм, що, імовірно, можна віднести до випромінювання фенольних сполук. Серія максимумів в області збудження флуоресценції (λ_{exc}) 240–450, 500–550, 590–670 нм і випромінювання (λ_{em}) 660–740 нм характерна для хлорофілів. Для ліпофільного екстракту з листя черемхи віргінської характерні максимуми поглинання в областях $\lambda_{exc}=250-270$ нм і $\lambda_{em}=270-290$ нм, що, імовірно, можна віднести до випромінювання фенольних сполук. Серія максимумів в області збудження флуоресценції (λ_{exc}) 240–450, 500–550, 590–670 нм і випромінювання (λ_{em}) 660–670 нм характерна для хлорофілів.

Висновки

З листя черемхи звичайної і черемхи віргінської методом вичерпної екстракції хлороформом у апараті Сокслет отримано ліпофільні екстракти, вихід яких становить 9,13% та 11,9% відповідно.

Встановлено деякі хімічні числові показники ліпофільних екстрактів з листя черемхи звичайної: кислотне число – 4,6; число омилення – 124,0; ефірне число – 119,4 та черемхи віргінської: 4,10; 122,15 і 118,34 відповідно.

Методом газорідної хроматографії досліджено жирнокислотний склад ліпофільних екстрактів з листя черемхи звичайної та черемхи віргінської. В обох екстрактах домінуючими є пальмітинова (27,43% і 33,78% відповідно) і α -ліноленова (39,29% та 29,03% відповідно) кислоти.

Методом хромато-мас-спектрометрії визначено наявність капронової, міристинової та пальмітинової кислоти у ліпофільному екстракті черемхи звичайної, а також пеларгонової, лауринової, пальмітинової кислоти у ліпофільному екстракті черемхи віргінської. Також у ліпофільних екстрактах сировини встановлено наявність деяких ізопреноїдів, фенольних сполук, алканів та алкенів.

Визначено кількісний вміст каротиноїдів (у перерахунку на β -каротин) і хлорофілів (у перерахунку на хлорофіл А) у ліпофільних екстрактах листя черемхи звичайної та черемхи віргінської. Він складає для черемхи звичайної: каротиноїдів – 325,39 мг/г, хлорофілів – 511,80 мг/г; для черемхи віргінської: каротиноїдів – 343,74 мг/г, хлорофілів – 590,83 мг/г.

Листя черемхи звичайної та черемхи віргінської є перспективною сировиною для подальшого фармакогностичного дослідження.

Література

1. Гусакова С.Д. Липофильные экстракты в фитотерапии и фитокосметике: получение и биологические свойства / С.Д. Гусакова, Ш.Ш. Садуллаев, З.А. Хушбакова // ХПС. – 1998. – №4. – С. 437–447.
2. Григорчук М.В. Черемха звичайна – джерело біологічно активних речовин / М.В. Григорчук, О.Б. Наріжна, О.В.

Криворучко // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матер. Всеукр. наук.-практ. конф. студ. та мол. вчених (23 квітня 2009 р.): Збірник. – Х.: Вид-во НФаУ, 2009. – С. 40.

3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.

4. Демьяненко В.Г. Разработка методик контроля качества препарата «Силидетин» / В.Г. Демьяненко Х.С. Бодри, А.А. Зинченко. // Фармаком. – 2004. – №2. – С. 1–6.
5. Кисличенко В.С. Аналіз якісного складу олії насіння та ліпофільної фракції з трави розторопші плямистої / В.С. Кисличенко, О.Д. Рошаль, Г.С. Болоховець // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – Харків: НФаУ, 2004. – Вип. 3(7), Т. 2. – С. 58–61.
6. Криворучко Е.В. Душистые вещества некоторых видов рода *Radus* / Е.В. Криворучко, О.Б. Нарижная, В.Н. Ковалев // Фармация Казахстана: интеграция науки, образования и производства: мат. междунар. науч.-практич. конф. – Шымкент, Казахстан, 2009. – С. 245–248.
7. Нарижная О.Б. Фенольные соединения листьев черемухи обыкновенной / О.Б. Нарижная, Е.В. Криворучко, В.Н. Ковалев // VII международный Симпозиум по фенольным соединениям: фундаментальные и прикладные аспекты: Материалы докладов, 19–23 октября 2009 г. – М.: Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 2009. – С. 187–188.
8. Фетисова А.Н. Теория и практика создания лекарственных средств на основе липофильных фракций растительного сырья для профилактики и лечения воспалительных заболеваний органов мочеполовой системы / А.Н. Фетисова, В.А. Попков // Вестн. РАМН. – 2004. – №6. – С. 28–31.
9. Deineka V.I. Anthocyanins from fruit of certain plants of the genus *Prunus* / V.I. Deineka, L.A. Deineka, A.A. Sirotin. // Chemistry of Natural Compounds. – 2005. – V. 41, №2. – P. 230–231.
10. Deineka V.I. Triglyceride composition of oil from stones of nine Rosaceae plants / N.G. Gabruk, L.A. Deineka, L.A. Manokhina // Chemistry of Natural Compounds. – 2002. – Vol. 38, №5. – P. 410–412.
11. Deineka V.I. Type composition of triglycerides from seed oils. II. triglycerides from certain cultivated plants of the Rosaceae family / V.I. Deineka., L.A. Deineka // Chemistry of Natural Compounds. – 2004. – V. 40, №3. – P. 293–294.

Відомості про авторів:

Наріжна О.Б., здобувач каф. фармакогнозії НФаУ.

Криворучко О.В., к. фарм. н., доцент каф. фармакогнозії НФаУ.

Ковальов В.М., д. фарм. н., професор, зав. каф. фармакогнозії НФаУ.

Адреса для листування:

Наріжна Ольга Борисівна. 61146, м. Харків, вул. Блюхера, 4, каф. фармакогнозії НФаУ.

Тел.: (0572) 67 92 08, (097) 950 07 60.

E-mail: gnosy@ukrfa.kharkov.ua