

ПОРІВНЯЛЬНИЙ ФІТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ СИРОВИНИ *LUPINUS LUTEUS* L. ТА *MEDICAGO FALCATA* L. SUBSP. *ROMANICA* (PRODAN) O. SCHWARZ & KLINK. ПІСЛЯ ГІДРОЛІЗУ

Ключові слова: *Lupinus luteus* L., *Medicago falcata* L., фармакогностичне дослідження, кумарини

Порядок Бобові (*Leguminosae*, або *Fabales*) містить одну родину – Бобові (*Fabaceae* L.), що об'єднує 17 000–18 000 видів у 650 родах. Родину, головним чином за відмінностями у будові квітки, прийнято поділяти на 3 підродини: Цезальпінієві (*Caesalpinioideae*), Мімозові (*Mimosoideae*) та безпосередньо Бобові або Метеликові (*Faboideae*) [4, 9].

Серед бобових відомі майже всі життєві форми, виключаючи паразитів і епіфітів; у межах свого ареалу представники цієї родини займають дуже різноманітні місця проживання.

Бобові – одна з найважливіших за практичною значущістю для людини група квіткових рослин, більшість із видів яких має характерну особливість – на коренях рослин присутні бульбочки з паренхімної тканини, що розрослася внаслідок ендогенного розселення азотфіксуючих бактерій роду Різобіум [2, 7].

Представниками підродини Метеликових є роди Люпин (*Lupinus* (Tourm.) L.) та Люцерна (*Medicago* L.)

Рід Люпин належить до триби Дрокових (*Genisteae*) і відрізняється великим поліморфізмом. Описано біля 1 000 трав'янистих, напівкущових та кущових, однорічних та багаторічних, зимуючих видів люпину [5].

Люцерна – представник триби Конюшинних (*Trifolieae*) – теж вельми поліморфний рід, мировий асортимент представлений 61 видом однорічних і багаторічних трав та напівчагарників. На території України трапляються 24 види, серед яких присутні однорічні, дворічні, багаторічні та змішані. Між рослин України цього роду – 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. [1, 9].

Люпин є однією 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 ст. як сидеральну культуру, а потім – як найціннішу кормову рослину [2, 5].

Гіпократ, Діоскорид, Авіцена, Гален, ботанік Теофраст та ін. у своїх античних книгах згадували люпин як корисну їстівну та лікувально-косметичну рослину [2, 9].

Як кормову культуру люпин застосовують різноманітно: зелена маса добре силосується, з неї готують сіно і сінне борошно; посіви люпину використовують на зелений корм і як пасовище; зерно слугує прекрасним концентрованим кормом. Основні райони культури – Україна, Білорусь, Росія [3, 5, 6].

Сучасний етап у розвитку люпиновисівання 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 відзначають бага-

тогранне використання цієї рослини. Використовують його з різними цілями у медицині, парфумерії, землеробстві, тваринництві, лісництві, садівництві, квітництві, ґрунтозахисному ділі, лакофарбовій промисловості [2, 3, 5].

Люцерна – одна з найпродуктивніших та цінних кормових культур, що здатна у багатьох регіонах сприяти вирішенню проблеми усунення дефіциту рослинного білка в тваринному раціоні. Завдяки підвищеному рівню екологічної пластичності та довготривалості, протягом кількох десятків років здатна давати високі врожаї насіння та зеленої маси високої якості [1, 7].

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

В Україні під люцерною зайнято близько 142 тис. гектарів, розосереджених по 15 областях, де лідує Черкаська область (майже 15% всіх посівів досліджуваної рослини). Люцерну використовують у сільському господарстві як корм для худоби, її заготовляють на сіно і роблять із неї сінне борошно.

Люпин у народній медицині застосовують проти наривів, родимих плям, для збудження апетиту, як засіб від глистів та болю в животі та печінці. З косметичними цілями – для зростання волосся та проти зморшок.

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

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.

У народній медицині рослину застосовують при захворюваннях кишечника, шлунка, щитоподібної залози, для поліпшення обміну речовин, нормалізації стану кровеносної системи, зниження рівня холестерину, підвищення рівня гемоглобіну в крові.

Люцерна є одним з компонентів біологічно активних добавок до їжі американських компаній NutriCare International, CaliVita International (*Spirulina Chlorella Plus*), Life Production (*Green Care*), Антихолінестерін, Ерамін, Альфа герб, порошки Хлорофіл люцерни виробництва Росії та ін. Фітоконцентрати люцерни посівної використовують у засобах догляду за шкірою [1].

В Україні зареєстровано ряд біологічно активних добавок, у складі яких міститься різний вміст біологічно активних субстанцій, отриманих із 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 – 50 мл ЗАО «Медикон», Росія; крем Гистан, 30 мл фірми «Вітамакс», Казахстан тощо [3].

Деякі види використовують як декоративні та лікарські рослини (*Medicago sativa*, *Medicago falcata*, *Lupinus arboreus*, *Lupinus nootkanensis*, *Lupinus polyphyllus*) [2, 3, 4].

При широкому застосуванні люпину та люцерни, дані щодо вивчення цих рослин розрізнені; відсутні стандарти щодо заготівлі, хімічного складу тощо; не проводили широкого фармакогностичного вивчення на вміст багатьох класів біологічно активних речовин, сполук істинних кумаринів та їх 4-оксипохідних, присутність яких має бути характерною для цих триб, на їх накопичення, взаємодію між собою та навколишнім середовищем.

Тому метою нашого дослідження був порівняльний аналіз хімічного складу, кількісного вмісту кумаринів та інших біологічно активних речовин первинного і вторинного біосинтезу у надземній частині представників родів *Lupinus* (Tourn.) L. – *Lupinus luteus* L. та *Medicago* L. – *M. falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink. після кислотного гідролізу.

Матеріали та методи дослідження

Рослинний матеріал (траву) заготовляли у період активного цвітіння рослин (травень–червень) у передмісті Запоріжжя (смт. Приморське). Висушували на протязі у тіні за температури до 40 °С [3, 6, 8].

Кислотний гідроліз рослинної сировини здійснювали за такою методикою: точну наважку рослинного матеріалу заливали водою, додаючи кілька крапель сульфатної кислоти (розчищеної). Витримували у теплі протягом визначеного часу. Після охолодження розчин екстрагували, екстрагент випарювали. Екстракт піддавали хроматографічному дослідженню на хроматографі Agilent Technologies (Німеччина) з мас-спектрометричним детектором. Газ-носії – гелій. Хроматографічна колонка – капілярна зі внутрішнім діаметром 0,25 мм, завдовжки 30 м.

Для ідентифікації компонентів використовували бібліотеку мас-спектрів NIST та WILEY із загальною кількістю спектрів більш 470 000 спільно з програмами для ідентифікації.

Для кількісних розрахунків використовували метод внутрішнього стандарту.

Розрахунок вмісту (мг/1 000 г) компонентів виконували за формулою:

$$C = K_1 \cdot K_2,$$

де $K_1 = \frac{S_1}{S_2}$ (S_1 – площа піка досліджуваної речовини; S_2 – площа піка стандарту);

$K_2 = \frac{50}{M}$ (50 – маса внутрішнього стандарту (мкг), введеного до зразка; M – наважка зразка (г)).

Результати дослідження та обговорення

Якісний склад і кількісний вміст біологічно активних сполук висушеної трави *L. luteus* L. та *M. falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink. (витяги після проведення гідролізу розчищеною сульфатною кислотою) визначали газорідинною хроматографією з мас-спектрометричним детектуванням. Отримані результати наведено в таблиці.

Т а б л и ц я

Компонентний склад сировини *Medicago falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink. та *Lupinus luteus* L. після гідролізу

<i>Medicago falcata</i> L. subsp. <i>romanica</i> (Prodan) O. Schwarz & Klink.			<i>Lupinus luteus</i> L.		
№ з/п	Компонент	Вміст, %	№ з/п	Компонент	Вміст, %
1	2	3	4	5	6
1	3-Метилбутанон-2	0,20	1	3-Метилбутанон-2	0,90
2	Метилізопропенілкетон	0,43	2	Метилізопропенілкетон	2,83
3	Гексеналь	0,10	3	Гексеналь	0,99
4	Ізовалеріанова кислота	0,15	4	2 Гексеналь	0,47
5	2-Гексеналь	0,07	5	Фурфурол	3,42
6	Фурфурол	0,28	6	2,4-Гексадієналь	0,33
7	Капронова кислота	0,33	7	Капронова кислота	1,11
8	Транс-2-гептеналь	0,03	8	2-Гептеналь	0,33

1	2	3	4	5	6
9	2-Гексенова кислота	0,07	9	2-Гексенова кислота	0,59
10	Бензальдегід	0,19	10	Бензальдегід	0,97
11	Бутиролактон	0,07	11	Бутиролактон	0,52
12	5-Метилфурфурол	0,01	12	Цис-2,4-гептадієналь	0,40
13	2,4-Гептадієналь	0,03	13	Транс-2,4-гептадієналь	1,02
14	Бензиловий спирт	0,07	14	Бензиловий спирт	0,92
15	Саліциловий альдегід	0,54	15	Каприлова кислота	0,43
16	Фенілацетальдегід	0,14	16	Мальтол	2,48
17	6-Метил-3,5-гептадієн-2-он	0,02	17	3-Етил-4-метил-1Н-пірол-2,5-діон	1,61
18	γ-Капролактон	0,03	18	3-Етенил-4-метил-1Н-пірол-2,5-діон	0,78
19	Каприлова кислота	0,11	19	2-Метокси-4-вінілфенол	2,22
20	β-Фенілетиловий спирт	0,08	20	Кумарин	3,87
21	Мальтол	0,20	21	3-Окси-β-дамаскон	9,02
22	Кетоізофорон	0,43	22	6-Метилкумарин	0,64
23	Пара-оксиацетофенон	0,10	23	2-Окси-β-дамаскон	1,20
24	2-Феноксіетанол	0,15	24	4(3-Окси-1-пропенил)-2-метоксифенол	1,20
25	3-Етил-4-метил-1Н-пірол-2,5-діон	0,07	25	Ферулова кислота	0,35
26	Саліцилова кислота	0,28	26	Грасхопер кетон	0,24
27	2-Метокси-4-вінілфенол	0,33	27	Гексадеценава кислота	1,89
28	Метил-пара-оксибензоат	0,03	28	Ізоліолід	0,78
29	Дигідрокумарин	0,07	29	Лінолева кислота	0,12
30	Ванілін	0,19	30	Гептакозан	1,39
31	9-Оксононанова кислота	0,07	31	Сквален	0,38
32	Кумарин	0,01	32	11,12-Дегідролупанин	0,85
33	Дигідроактинидіолід	0,03			
34	3-Окси-β-дамаскон	0,07			
35	6-Метилкумарин	0,54			
36	2-Окси-β-дамаскон	0,14			
37	Пальмітинова кислота	0,02			
38	Ізоліолід	0,03			
39	4-Окси-3,5,5-триметил-4(3-оксо-1-бутеніл)-2-циклогексен-1-он	0,11			
40	Лоліолід	0,08			
41	Нонакозан	0,2			

Під час проведення ГР-хроматографії екстракту після гідролізу сировини *Lupinus luteus* L. було знайдено 64 сполуки. З них було ідентифіковано 32 сполуки.

Під час проведення ГР-хроматографії екстракту після гідролізу сировини *Medicago falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink. ми знайшли 52 сполуки, ідентифікували – 41.

Деякі компоненти є присутніми у гідролізованих рідких екстрактах обох вивчаємих рослин (*L. luteus* L. та *M. falcata* L.). Це представники класу спиртів: бензиловий спирт (0,92 та 0,07%), мальтол (2,48 та 0,20%), 2-метокси-4-вінілфенол (2,22 та

0,33%); альдегідів та кетонів: гексеналь (0,99 та 0,10%), 2-гексеналь (0,47 та 0,07%), бензальдегід (0,97 та 0,19%); 3-метилбутанон-2 (0,90 та 0,20%), метилізопропенілкетон (2,83 та 0,43%), фурфурол (3,42 та 0,28%). З групи терпеноїдів були представлені: ізололіолід (0,78 та 0,03%), 3-окси- β -дамаскон (9,02 та 0,07%), 2-окси- β -дамаскон (1,20 та 0,14%). Траплялися такі жирні кислоти: 2-гексенова кислота (0,59 та 0,07%), капронова кислота (1,11 та 0,33%), каприлова кислота (0,43 та 0,11%). В обох екстрактах був присутній представник вищих естерів (лактонів) бутиролактон (0,52 та 0,07%).

Сполук – похідних α -пірону – кумарину визначено 3,87 та 0,01%, ідентифіковано та кількісно визначено 0,64 та 0,54% 6-метилкумарину.

Оскільки під час вивчення у рослинах класу кумаринів, що нас зацікавив, ми шукаємо речовини-маркери, звертає на себе увагу присутність у екстрактах характерних компонентів – представника α -піронів – дигідрокумарину (0,07%), з класу альдегідів – саліцилового альдегіду (0,54%), фенілацетальдегіду (0,14%) та карбонових кислот – саліцилової (0,89%), ізовалеріанової (0,15%), оксононаної (0,07%) та пальмітинової (0,02%) у екстракті з надземної частини люцерни посівної. У екстракті з люпину нас зацікавили кількості та наявність представників альдегідів: 2,4-гексадієналю (0,33%), цис-2,4-гептадієналю (0,40%), транс-2,4-гептадієналю (1,02%); карбонових кислот: гексадеценової (1,89%), ферулової (0,35%) та лінолевої (0,12%).

В и с н о в к и

1. Вперше було здійснено хроматографію з мас-спектрометричним детектуванням сировини люцерни серпоподібної – румунської (*Medicago falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink.) та люпину жовтого (*Lupinus luteus* L.) За даними газорідинної хроматографії відповідно визначено 52 (56) сполуки, з яких ідентифіковано 41 (32) компонент.

2. У сировині *Medicago falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink. та *L. luteus* L. після проведення кислотного гідролізу визначено ряд біологічно активних речовин первинного синтезу – спирти, альдегіди, кетони тощо. З класу істинних кумаринів у сировині вивчаємих рослин після гідролізу ідентифіковані: дигідрокумарин, кумарин та 6-метилкумарин.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Гречана О. В. Исследование *Medicago falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan.) O. Schwarz & Klink. / Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії: 1-ша міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. 7–8 листоп. 2014 р. Тези доп. – Харків, 2014. – С. 206–207.

2. Гречана О. В. Фармакогностичні дослідження зв'язаних кумаринів у траві *Lupinus luteus* L. / Перспективні інновації в науці, освіті, виробництві та транспорті – 2013: міжнарод. науч.-практ. конф. SWorld, 22 листоп. 2013 р. Тезиси докл. 413-0222.53. – Одеса, 2013. – С. 3–5.

3. Гречана О. В. Фармакогностичне дослідження *Lupinus luteus* L. // Акт. питання фармац. та мед. науки та практики. – 2014. – № 1 (14). – С. 6–9.

4. Кьосев П. А. Полный справочник лекарственных растений. – М.: Эксмо, 2005. – 992 с.

5. Майсурян Н. А., Атабекова Л. И. Люпин. – М.: Колос, 1974. – 463 с.

6. Немерешина О. Н., Гусев Н. Ф., Зайцева В. Н. О некоторых аспектах рационального использования лекарственных растений Предуралья // Известия ОГАУ. – 2009. – № 2 (22). – С. 308–311.

7. Петрук В. А. Продуктивность люцерны на корм и семена // Аграрная наука. – 2008. – № 2. – С. 16–18.

8. Решетникова М. Д., Левинова В. Ф., Хлебников А. В. и др. Химический анализ биологически активных веществ лекарственного растительного сырья и продуктов животного происхождения. Уч. пособие / Под ред. проф. Г. И. Олешко. – Пермь, 2004. – 335 с.

9. Trease G. E., Evans W. C. A Text Book of Pharmacognosy. 16-th edn. – London: Elsevier Health Science, 2009. – 616 p.

Надійшла до редакції 14. 11. 2015.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЫРЬЯ *LUPINUS LUTEUS* L. И *MEDICAGO FALCATA* L. SUBSP. *ROMANICA* (PRODAN) O. SCHWARZ & KLINK. ПОСЛЕ ГИДРОЛИЗА

Ключевые слова: *Lupinus luteus* L., *Medicago falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink., фармакогностическое исследование, кумарины

АННОТАЦИЯ

Люпин в народной медицине используют против абсцессов, родинок, для возбуждения аппетита, как средство от глистов и боли в животе и печени.

Люцерну в народной медицине используют при заболеваниях кишечника, желудка, щитовидной железы, для улучшения обмена веществ, нормализации сосудистой системы, снижения уровня холестерина, повышения уровня гемоглобина в крови.

В Украине зарегистрирован ряд диетических добавок, которые получены из этих растений, с рекомендациями для внутреннего или наружного использования.

Некоторые виды исследуемых растений используют в качестве декоративных или лекарственных.

При широком использовании люпина и люцерны, исследования по этим растениям, по их составу рассеяны, нет данных для стандартизации; не проводилось широкого фармакогностического исследования содержания многих классов биологически активных веществ, соединений истинных кумаринов и их 4-оксипроизводных, чье присутствие должно быть характерным для этих триб, их накопления, взаимодействия между собой и окружающей средой.

Таким образом, целью нашего исследования был сравнительный анализ химического состава, содержания кумаринов и других биологически активных веществ первичного и вторичного биосинтеза в надземной части видов люпин желтый и люцерна серповидная (румынская) после кислотного гидролиза.

Растительный материал собран во время активного цветения растений на окраине Запорожья. Высушен в тени. Проведен кислотный гидролиз разбавленной серной кислотой.

Экстракты исследовали при помощи хроматографа Agilent Technologies (Германия) с масс-спектрометрическим детектором. Для идентификации компонентов мы использовали библиотеки масс-спектров NIST и Wiley.

Для количественных расчетов мы использовали метод внутреннего стандарта.

При проведении хроматографии экстракта сырья люпина жёлтого после гидролиза найдено 64 соединения. Из них были идентифицированы 32.

При проведении хроматографии экстракта сырья люцерны серповидной (румынской) после гидролиза мы нашли 52 соединения и определили – 41.

Некоторые компоненты присутствуют в гидролизованных жидких экстрактах обоих исследуемых растений и представлены классами спиртов, альдегидов и кетонов, терпеноидов, жирных кислот, высших эфиров (лактонов).

Среди соединений – производных α -пирона были выявлены и определены количественно кумарин и 6-метилкумарин.

Поскольку нас интересовал класс производных α -пирона, в растениях мы искали вещества-маркеры, внимание обращали на наличие в экстрактах специфических компонентов – альдегидов и карбоновых кислот.

COMPARATIVE PHYTOCHEMICALS ANALYSIS OF RAW MATERIALS OF *LUPINUS LUTEUS* L. AND *MEDICAGO FALCATA* L. SUBSP. *ROMANICA* (PRODAN) O. SCHWARZ & KLINK. AFTER HYDROLYSIS

Key words: *Lupinus Luteus* L., *Medicago Falcata* L., pharmacognostic research, coumarin

ABSTRACT

Lupin in folk medicine used against abscesses, birthmarks, to excite the appetite.

Alfalfa in folk medicine used for diseases of the intestine, stomach, thyroid, to improve metabolism, normalization of the circulatory system, lower cholesterol, increased levels of hemoglobin in the blood.

In Ukraine has registered a number of dietary supplements, which derived from studied plants with recommendations for indoor or outdoor use.

Some types of the studied plants are used as ornamental and medicinal.

With widespread use of lupine and lucerne, data of the study of these plants scattered; there are no standards for the preparation, composition, etc; not conducted a broad pharmacognostic study of the content of many classes of biologically active substances, compounds of true coumarins and their 4-oxyderivatives whose presence must be characteristic of these tribes, their accumulation, interaction between themselves and the environment.

Therefore, the aim of our study was a comparative analysis of the chemical composition, quantity of coumarins and other biologically active substances of primary and secondary biosynthesis in the aerial part of the genera *Lupinus* (Tourn.) L. – *L. luteus* L. and *Medicago* L. – *M. falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink. after acid hydrolysis.

Plant material harvested during active flowering plant in the outskirts of Zaporizhyya. Dried in the shade. Conducted the acid hydrolysis of diluted sulfuric acid.

Extracts were subjected to the research chromatograph Agilent Technologies (Germany) with mass-spectrometric detector. To identify the components we used the library mass spectra NIST and WILEY.

For quantitative calculations we used the method of internal standard.

In conducting GL-chromatography after hydrolysis an extract of raw *Lupinus luteus* L. found 64 compounds. Of these, 32 compounds were identified.

In conducting GL-chromatography after hydrolysis an extract of raw *Medicago falcata* L. subsp. *romanica* we found 52 compounds and identified – 41.

Some components are present in the hydrolyzed liquid extracts both the studied plants and submitted of alcohols, aldehydes and ketones, terpenoids, fatty acids, higher esters (lactones).

Among the compounds – derivatives of α -piron were identified and was determined quantity of coumarin and 6 methylcoumarin.

Since in the study we are interested in class of coumarins in plants, we are looking substance-markers and attention is drawn to the presence in the extracts specific components-aldehydes and carboxylic acids in the extract of aerial parts of lucerne sown (syn. romanian) and lupine luteus.

Електронна адреса для листування з автором: 1310grechanaya@ukr.net