

И. Н. Владимирова, В. А. Георгианц

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ *LEMNA MINOR* S. F. GRAY

Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

Исследован химический состав биологически активных соединений ряски малой. Титриметрическим методом определено количественное содержание общего йода; спектрофотометрическим — флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид; методом газовой хроматомасс-спектрометрии были идентифицированы 32 липофильных вещества различных химических групп. Атомно-эмиссионным спектрографическим методом в ряске малой определено 14 макро- и микроэлементов. Исследование биологически активных веществ ряски малой представляет интерес для дальнейшего изучения фармакологических свойств с целью создания новых лекарственных препаратов.

Ключевые слова: *Lemna minor* S. F. Gray; макро- и микроэлементы; йод; флавоноиды; липофильные соединения.

Ряска малая (*Lemna minor*) — многолетнее водное растение, вид рода Ряска (*Lemna*) подсемейства рясковые семейства ароидные (*Araceae*). Растёт в изобилии в стоячих водоёмах и часто сплошь покрывает их поверхность. Растение натурализовалось во всех странах с умеренным климатом [1, 2].

Растение относится к числу ценнейших кормовых, пищевых и лекарственных растений. Ряска содержит незаменимые аминокислоты (аргинин, лизин), аспарагиновую и глютаминовую кислоты, углеводы, витамины группы А, В и Е. Из важнейших макро- и микроэлементов в ней присутствуют бром, йод, кальций, фосфор и др. Препараты ряски применяются как жаропонижающее средство при заболеваниях гриппозного характера. Характерным свойством ряски является ее десенсибилизирующее свойство, уменьшающее чувствительность организма к взаимодействию различных аллергенов. Может применяться при лечении крапивницы, отеках различного, в основном аллергического характера. С ее помощью лечится витилиго, подагра, воспаления верхних дыхательных путей. Препараты ряски используются для лечения ревматизма, заболеваний печени и щитовидной железы. Наружно препараты ряски применяют для лечения и обеззараживания гнойников, застарелых ран, фурункулов [3 – 5].

Экспериментальная часть

Объектом исследования служило воздушно-сухое сырье — листец ряски малой (*Lemna minor* S. F. Gray), — заготовленная в период с июня по сентябрь 2010 – 2011 гг. в Харьковской области.

Химический состав растения изучался с использованием комплекса методов: титриметрического, ультрафиолетовой спектроскопии (УФ-спектроскопии), газовой хроматомасс-спектрометрии (ГХМС), атомно-эмиссионной спектрометрии.

Количественное определение йода в ряске устанавливали титриметрическим методом, который имеет высокую чувствительность при определении всех форм йода, — молекулярного, неорганических форм

йода (йодидов, йодатов) и органически связанного. Для определения в сырье содержания общего йода и перевод всех химических форм йода в йодид-ионы проводилось щелочное окислительное разложение пробы (при температуре не более 600 °С) с последующей нейтрализацией и титрованием 0,01 М раствором натрия тиосульфата, с использованием раствора крахмала как индикатора [6].

Для количественного определения флавоноидов в сырье была использована методика, основанная на их способности образовывать окрашенные комплексы со спиртовым раствором алюминия хлорида. В расчетах был использован удельный показатель поглощения $E_{1\text{см}}^{1\%} = 145$, установленный для лютеолин-7-глюкозида (циннарозида), который составляет 145, при аналитической длине волны, равной 400 нм [7].

Для изучения элементного состава ряски малой был использован атомно-эмиссионный спектрографический метод [9], основанный на выпаривании золы растений в дуговом разряде, фотографической регистрации разложенного в спектр излучения и измерении интенсивности спектральных линий отдельных элементов. Пробы выпаривали из кратеров графитовых электродов в разряде дуги переменного тока силой 16 А при экспозиции 60 с. В качестве источника возбуждения спектров был использован ИВС-28. Спектры регистрировали на фотоэмульсии при помощи спектрографа ДФС-8 с дифракционной решеткой 600 штр/мм и трехлинзовой системой освещения щели.

Градуировочные графики в интервале измеряемых концентраций элементов строили при помощи стандартных проб растворов солей металлов (ИСОМ-23-27). Фотометрировали линии спектров при длине волны от 240 до 347 нм в пробах в сравнении с государственными образцами смеси минеральных элементов, которые соответствуют составу разнотравья, при помощи микрофотометра МФ-4. Относительное стандартное отклонение (для пяти параллельных измерений) не превышало 20 % при оп-

ределении числовых величин концентраций элементов.

Изучение липофильных веществ ряски малой проводили методом ГХМС, который позволяет провести идентификацию и количественное определение исследуемых соединений без использования метчиков этих веществ по библиотечным масс-спектрам [8].

Навеску исследуемого образца (50 – 100 мг, точная навеска) помещали в виалу на 2 мл, добавляли 1 мл хлористого метилена и внутренний стандарт (тридекан), из расчета 50 мкг на навеску, с последующим определением полученной концентрации внутреннего стандарта, которая используется для окончательных расчетов. Экстракцию проводили в течение 24 ч, после чего растворитель количественно переносили в виалу на 2 мл и упаривали до объема 50 мкл.

Ввод пробы (1 мкл) в хроматографическую колонку проводили без деления потока, что позволяет ввести пробу без потерь на разделение и существенно (в 10 – 20 раз) увеличивает чувствительность метода хроматографирования.

Условия проведения анализа: хроматограф Agilent Technologies 6890 с масс-спектрофотометрическим детектором 5973; хроматографическая колонка — капиллярная с внутренним диаметром 0,25 мм и длиной 30 м; скорость газа-носителя (гелий) — 1,2 мл/мин.; температура нагревателя ввод пробы — 250 °С; температура термостата программируется от 50 до 320 °С со скоростью 4 °С/мин; скорость ввода пробы 1,2 мл/мин.

Расчет содержания компонентов проводили по формуле:

$$C = K_1 K_2 \cdot 1000, \text{ мг/кг}$$

где

$$K_1 = \frac{P_1}{P_2}, \quad K_2 = \frac{50}{M}$$

P_1 — площадь пика исследуемого вещества; 50 — масса внутреннего стандарта введенного в образец, мкг; P_2 — площадь пика стандарта; M — масса навески образца, мг.

Для идентификации компонентов использовалась библиотека масс-спектров Nist05 и WILLEY 2007 с об-

щим количеством спектров более 470 тыс. совместно с программами для идентификации AMDIS и NIST.

Результаты и их обсуждение

Титриметрическим методом было установлено количество биологически активных веществ в ряске малой с учетом влажности сырья: содержание общего йода в пересчете на йодид-ион, составило $0,0294 \pm 0,001 \%$ ($\varepsilon = 4,82 \%$); содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид (циннарозид) — $0,38 \pm 0,01 \%$ ($\varepsilon = 1,60 \%$).

Т а б л и ц а 2

Липофильные вещества ряски малой

Номер пика на хроматограмме	Время удерживания, мин	Площадь пика, мВ · с	Название вещества	Содержание, мг / кг
1	4,20	771249	гексаналь	1,0
2	8,39	1120111	<i>транс</i> -2-гептеналь	1,5
3	9,28	1300396	капроновая кислота	1,7
4	9,72	1599369	этилкапронат	2,1
5	11,86	1120057	<i>транс</i> -2-октеналь	1,5
6	13,19	350205	этилгептаноат	0,5
7	13,50	308456	нонаналь	0,4
8	13,75	238845	2,6-диметилциклогексанол	0,3
9	16,21	1076359	ментол	1,4
10	18,06	1375619	пиррол-2,5-дион	1,8
11	20,15	56495516	внутренний стандарт	741,8
12	22,29	3255637	тетрадекан	4,3
13	24,20	1179657	пентадекан	1,5
14	24,91	1554056	дигидроактинидионид	2,0
15	27,42	2350851	гептадекан	3,1
16	28,64	1728875	лолиOLID	2,3
17	28,73	1827346	этилтетрадеканоат	2,4
18	29,34	4626535	<i>транс</i> -неофитадиен	6,1
19	29,42	12003111	гексагидрофарнезиллацетон	15,8
20	29,91	1547556	<i>цис</i> -неофитадиен	2,0
21	30,08	929745	этилпентадеканоат	1,2
22	30,45	4000862	не идентифицированы	5,3
23	31,35	8453049	этилпальмитат	11,1
24	32,65	5591896	хенейкозан	7,3
25	32,79	2760452	фитол	3,6
26	34,90	5504342	трикозан	7,2
27	36,92	942723	не идентифицированы	1,2
28	36,96	2505256	пентакозан	3,3
29	38,89	4039428	гептакозан	5,3
30	42,92	2252475	не идентифицированы	3,0
31	45,3	5474185	кемпестерол	7,2
32	45,74	11601090	стигмастерол	15,2
33	46,89	12881634	γ -ситостерол	16,9
34	47,71	2609425	не идентифицированы	3,4
35	48,24	4105257	спинастерон	5,4
36	49,70	6170982	ситостенон	8,1

Т а б л и ц а 1

Элементный состав ряски малой

Макроэлементы	Содержание, мг / 100 г	Микроэлементы	Содержание, мг / 100 г
Натрий	1870	Марганец	155
Магний	935	Никель	0,93
Алюминий	156	Медь	0,78
Кремний	2495	Цинк	< 0,01
Фосфор	515	Свинец	< 0,03
Калий	4680	Молибден	< 0,02
Кальций	4990		
Железо	934		

С помощью атомно-эмиссионного спектрографического метода анализа в ряске малой определено 14 элементов и установлено их содержание (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о следующей закономерности содержания элементов в исследуемом объекте: кальций > калий > кремний > натрий > магний > железо > фосфор > алюминий > марганец > никель > медь > свинец > молибден > цинк (в сторону уменьшения содержания).

Анализ хроматограммы, приведенной на рис. 1, свидетельствует о четком разделении многих компонентов липофильной фракции — хроматограмма содержит более 50 пиков, которые выходят из колонки в течение 50 мин.

Соединения, которые были идентифицированы в результате проведенного анализа, представлены в табл. 2.

В исследуемом образце были определены жирные кислоты и их производные (этилпальмитат), насыщенные карбоновые кислоты и их производные (капроновая кислота, этилкапронат), альдегиды и кетоны (транс-2-гептеналь, гексаналь, транс-2-октеналь, нонаналь, гексагидроксифарнезиллацетон), многоатомные спирты (этилгептаноат, 2,6-диметилциклогексанол), производные гетероциклических соединений (пиррол-2,5-дион), ароматические спирты (ментол), алканы (тетрадекан, пентадекан, гептадекан), монотерпеновые лактоны (лолиOLID), алифатические кислоты и их эфиры (этилтетрадеканоат), олефины (цис-неофитадиеп, дигидроактинидиOLID), дитерпеновые спирты (фитол), насыщенные углеводороды (гептакозан, пентакозан, хенейкозан, трикозан), сложные эфиры (этилпентадеканоат), фитостерины (кемпестерол, стигмастерол, γ -ситостерол, спинастерон, ситостерон).

Методом ГХМС в ряске малой были идентифицированы 32 биологически активных вещества различных химических групп. Среди идентифицированных соединений в наибольших количествах содержатся (мг/кг): фитостерины — 52,8; насыщенные углеводороды — 23,1; альдегиды и кетоны — 20,2; жирные кислоты и их производные — 11,1.

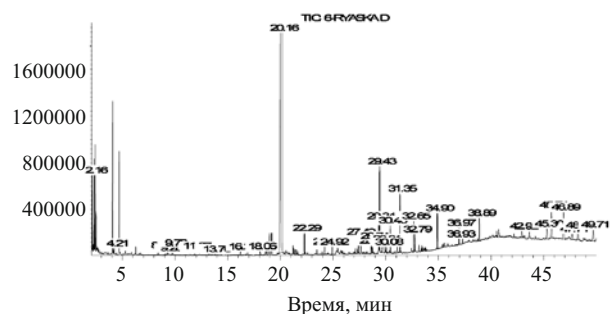


Рис. 1. Хроматограмма липофильной фракции из листеца ряски малой.

Полученные экспериментальные данные изучения биологически активных веществ ряски малой свидетельствует о широком разнообразии химических групп соединений, что обуславливает наличие разнонаправленных фармакологических свойств ряски малой и перспективность ее дальнейшего изучения с целью создания фитопрепаратов

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Л. Тахтаджян, *Система магнолиофитов*, Наука, Ленинград (1987).
2. О. И. Кузенева, *Флора СССР*, В 30 т, Т. III АН СССР, Москва-Ленинград (1935).
3. А. И. Тихонов, *Автореф. дис. канд. фармац. наук*, Москва (1968).
4. А. Маркова, *Травник. Золотые рецепты народной медицины*, Эксмо-Форум, Москва (2007).
5. В. П. Махлаюк, *Лекарственные растения в народной медицине*, Нива России, Москва (1992).
6. *Государственная фармакопея Украины 1-е изд. Дополнение 3*, Харьков (2009), сс. 159 – 160.
7. В. Ю. Андреева, Г. И. Калинина, *Химия растительного сырья*, № 1, 85 – 88 (2000).
8. L. Mika, T. Török, *Analytical Emission Spectroscopy*, Fundamentals, Budapest and Butterworth, London (1973).
9. Ф. Карасек, Р. Клемент, *Введение в хроматомасс-спектрометрию*, Мир, Москва (1993).

Поступила 22.02.13

BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS OF DUCKWEED

I. N. Vladimirova and V. A. Georgiyants

National University of Pharmacy, 61000 Kharkiv, Ukraine

The chemical composition of biologically active compounds isolated from little duckweed (*Lemna minor*) has been investigated. The total content of iodine compounds has been determined by titrimetric method; flavonoids (in terms of luteolin-7-glucoside) have been determined by spectrophotometry; and the content of thirty-two lipophilic substances belonging to different chemical groups has been determined by gas chromatography – mass spectrometry (GS/MS). In addition, the content of fourteen macro- and microelements has been determined by atomic emission spectroscopy. The analysis of biologically active substances is important for further investigation of the pharmacological properties of *Lemna minor* as a valuable raw material for the creation of new drugs.

Key words: little duckweed (*Lemna minor* S. F. Gray); macro- and microelements; iodine; flavonoids; lipophilic substances