



О. В. Гречана, С. Д. Тржецинський

Вивчення сировини люцерни жовтої (серпоподібної або румунської)

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: кумарини, амінокислота, бобові.

При великому поширенні та використанні трави люцерни відсутні наукові комплексні роботи з фармакогностичними дослідженнями представників рослин цього роду.

Мета роботи – вивчення вмісту груп сполук істинних кумаринів та їхніх 4-оксипохідних, наявність яких має бути характерною для люцерни жовтої (серпоподібної або румунської).

Матеріали та методи. Визначали діагностичні анатомічні ознаки рослини *Medicago falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink.

Черешок листка мав такі діагностичні ознаки: клітини епідермісу подовжені, паренхімні або прозенхімні, з 4, рідше – з 5–6 кутами; опушення простими одноклітинними волосками з бородавчастою кутикулою, котрі можна побачити на верхній і нижній епідермі листка; продиhi трапляються рідко; присутність розетки, що утворена базисними епітеліальними клітинами, біля основи волосків.

Виявили при хроматографуванні нативної сировини 66 компонентів, з яких ідентифікували 38 речовин. Серед них – дигідрокумарин (1,60%) та кумарин (13,13%). Після здійснення кислотного гідролізу виявили 52 компоненти, з них 41 речовину ідентифікували. Це – комплекс біологічно активних сполук первинного синтезу: спирти, альдегіди, кетони. Виявили похідні 4-оксикумарину: кумарин – 79,38%, дигідрокумарин – 4,95% та 6-метилкумарин – 0,39%.

При вивченні амінокислотного складу надземної частини рослини нас зацікавила істотна кількість аспарагінової кислоти, проліну та фенілаланіну.

Изучение сырья люцерны жёлтой (серповидной или румынской)

Е. В. Гречаная, С. Д. Тржецинский

При широком распространении и использовании травы люцерны отсутствуют комплексные научные работы с фармакогностическими исследованиями представителей растений данного рода.

Цель работы – изучение содержания групп соединений истинных кумаринов и их 4-оксипроизводных, присутствие которых должно быть характерным для люцерны жёлтой (серповидной или румынской).

Материалы и методы. Проводились определения диагностических анатомических признаков растения *Medicago falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink.

Черешок листка имел такие диагностические признаки: клетки эпидермиса удлинённые, паренхимные или прозенхимные, 4-, реже 5–6 угольные; опушение простыми одноклеточными волосками с бородавчатой кутикулой, которые можно встретить на верхнем и нижнем эпидермисе листка; устьица встречаются редко; возле основания волосков расположена розетка, образованная базисными эпителиальными клетками.

Выявлено при хроматографировании нативного сырья 66 компонентов, из которых идентифицировано 38. Среди них – дигидрокумарин (1,60%) и кумарин (13,13%). После проведения кислотного гидролиза найдено 52 компонента, из которых идентифицировано 41 вещество. Это – комплекс биологически активных соединений первичного синтеза: спирты, альдегиды, кетоны. Выявлены производные 4-оксикумарина: кумарин – 79,38%, дигидрокумарин – 4,95% и 6-метилкумарин – 0,39%.

При изучении аминокислотного состава надземной части изучаемого растения нас заинтересовало существенное количество аспарагиновой кислоты, пролина и фенилаланина.

Ключевые слова: кумарины, аминокислота, бобовые.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2016. – № 2 (21). – С. 52–56

Study of raw material of alfalfa yellow (like-sickle or Romanian)

O. V. Grechana, S. D. Trzhetsinskiy

Along with the wide distribution and use of alfalfa grass there is no comprehensive scientific pharmacognosy studies about representatives of the plants of this kind.

Aim. To study the content of the group of true coumarins and 4-oxysterivatives which presence must be characteristic for the yellow alfalfa.

Materials and methods. The determination of diagnostic anatomical features of the plant *Medicago falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink has been carried out.

The leaf petiole has such diagnostic characteristics: elongated epidermal cells, parenchymal or prosenchymal, 4-, or (rarely) 5-6 gonial; pubescence is of simple single-celled hairs with warty cuticle, which can be found on the upper and lower epidermis of the leaf. The stomatas are rare. The rosette is formed from basal epithelial cells near the base of the hairs.

Results. 66 Components have been revealed by chromatography of native raw, 38 of components have been identified, namely - dihydrocoumarin (1.60%) and coumarin (13.13%). After the acid hydrolysis 52 components have been revealed, 41 of which have been

identified. These substances are the complex of biologically active compounds: primary alcohols, aldehydes, ketones. 4-Oxycoumarin derivatives have been identified: coumarin – 79.38% dihydrocoumarin – 4.95%, and 6-methylcoumarin – 0.39%.

While studying the amino acid composition of the above-ground parts of alfalfa yellow we got interested in a significant amount of aspartic acid, proline and phenylalanine.

Key words: Coumarins, Amino Acid, Fabaceae.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2016; № 2 (21): 52–56

Рід Люцерна (*Medicago L.*) на території України має ареали 24 видів (у світі налічується та описано 61 вид). Усі види люцерни поділяють на три групи за кількістю хромосом: диплоїдні, тетраплоїдні та гексаплоїдні.

Люцерна жовта (серпоподібна або румунська) – багаторічна посухостійка та дуже зимостійка трав'яниста рослина заввишки 50–80 см, представник родини Бобові (*Fabaceae L.*). Це – найдавніша культура, її почали вирощувати багато тисячоліть тому, ймовірно, тоді, коли й пшеницю [6,8].

Рослина утворює прямостійний, багатостебловий, добре вкритий листям кущ. Стебла прямі або лежачі. Листя трійчасте, листочки частіше клиноподібної форми, зазубрені у верхній частині, сидять на коротких черешках, середній – на довшому. Забарвлення листя варіює від яскраво- до темно-зеленого.

Суцвіття – гроно різної довжини та щільності, з 12–16 яскраво забарвленими квітками, що розташовані на верхівках стебел і бічних гілок. Квітки дрібні, з п'ятизубчастою чашечкою, із загостреними чашолистками, обох статей. Плід – біб, мілкий, серпоподібний, багатонасінний, опушений. Насіння жовте, має паличкоподібну форму.

Рослина розвиває міцну кореневу систему вже на першому році життя: корінь потовщений, частіше стрижневий із дуже розвиненими бічними та безліччю тонких коренів, що розташовуються глибоко у ґрунті, досягаючи глибини 7–10 м. Коренева система довговічна, швидко й добре відростає, витривала до випасань.

Люцерна в Україні культивується в лісостеповій зоні, займає майже 121 тис. гектарів у 15 областях. Ніжна зелена трава є цінним кормом для свійських тварин; її заготовляють на сіно, роблять з неї сінне борошно [1,2].

Листя, плоди люцерни містять мінеральні елементи (калій, кальцій, фтор тощо), вуглеводи, білки, жирні кислоти, ефірну олію, пектини, рослинні стероїди, ферменти, хлорофіл, алкалоїди, гормоноподібні речовини, каротин [2,5].

У народній медицині використовують всю надземну частину рослини при захворюваннях кишечника, шлунка, щитоподібної залози, для поліпшення обміну речовин, нормалізації стану кровоносної системи, зниження рівня холестерину, підвищення рівня гемоглобіну у крові тощо [5,7].

Мета роботи

Вивчити вмісту груп сполук істинних кумаринів та їхніх 4-оксипохідних, присутність яких повинна бути характерною для цієї триби.

Матеріали і методи дослідження

Надземну частину (рослинний матеріал) заготовляли в період активного цвітіння (травень – червень) у Запорізькій області (с. Приморське). Висушували на протязі

під навісом.

Мікропрепарати для вивчення анатомічної будови готували зі свіжозібраної, фіксованої сировини. Анатомічну будову вивчали на препаратах із поверхні, поперечних та поздовжньо-радіальних зрізах, котрі робили за загальноприйнятою методикою [4].

Для роботи використовували світловий мікроскоп БІОЛАМ ЛОМО (Російська Федерація) при збільшенні у 80, 120, 160, 400, 600 і 800 разів.

Дані, що отримали, фіксували цифровою фотокамерою OLYMPUS SH-21. Фотографії опрацювали за допомогою комп'ютерної програми Adobe Photoshop CS3.

Сировину досліджували за допомогою хроматографа Agilent Technologies із мас-спектрометричним детектором за загальновідомими методиками [6,8].

Зв'язані амінокислоти аналізували на амінокислотному аналізаторі [2].

Результати та їх обговорення

Клітини епідерми видовжені паренхімні або прозенхімні, 4-, рідше 5–6 кутні. Продихи трапляються нечасто (*рис. 2*).

Опушення епідерми середнє, представлене волосками на верхній і нижній епідермі листка (*рис. 1*).

Відмінною ознакою опушення черешка є наявність біля основи волосків розетки, котра утворена базисними епітеліальними клітинами (*рис. 2*).

У процесі хроматографування екстракту нативної висушеної сировини знайдені 66 компонентів, з яких ідентифікували 38 сполук (*табл. 1*). Серед них представників істинних кумаринів ідентифіковано: дигідрокумарину – 1,60% і кумарину – 13,13%.

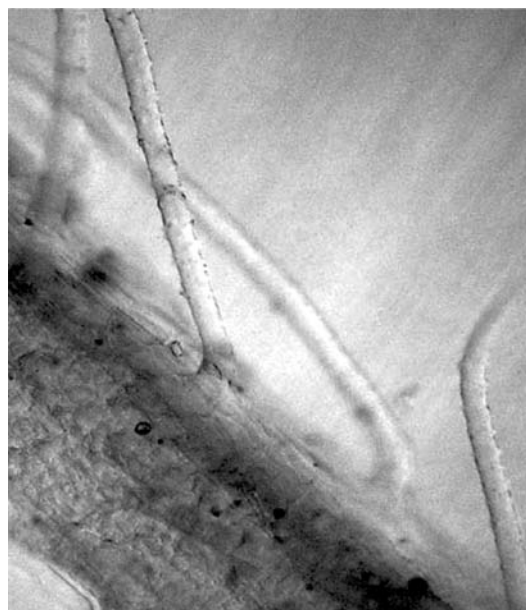


Рис. 1. Черешок листка з поверхні (x80)

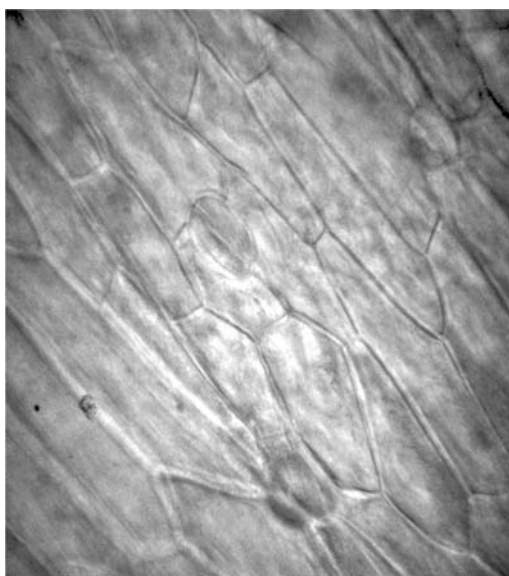


Рис. 2. Фрагмент епідерми черешка (x400)

Здійснивши ГРХ-хроматографію екстракту після кислотного гідролізу, знайшли 52 компоненти (табл. 2), з них ідентифіковано 41 сполуку.

Представників класу справжніх кумаринів у заготовлених надземних частинах люцерни румунської після гідролізу ідентифіковано та визначено 3 найменування – кумарин (79,38%), дигідрокумарин (4,95%) і 6-метилкумарин (0,39%).

В обох випадках траплялись такі компоненти: бензиловий спирт (0,03% та 0,07%), дигідроактиндіолід (0,30% та 0,72%), пальмітинова кислота (2,49% та 0,23%), лоліолід (0,20% та 0,82%), нонакозан (5,57% та 0,16%), дигідрокумарин (4,95% та 1,60%) і кумарин (13,13% та 79,38%).

Серед амінокислот *Medicago falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink привертає увагу вагома кількість аспарагінової кислоти (20,25%), проліну (19,98%) і фенілаланіну (9,77%) (табл. 3).

Таблиця 1

Компонентний склад сухої сировини *Medicago falcata* L. subsp. *romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink

Компонент	(%)	Компонент	(%)	Компонент	(%)
гексанова кислота	0,13	цис-, транс-неофітадієн	0,35	нонакозан	5,57
бензиловий спирт	0,03	транс-неофітадієн	0,58	ейкозанол	15,05
нонаналь	0,05	пальмітинова кислота	2,49	гентріаконтан	1,34
внутрішній стандарт	26,15	лоліолід	0,20	кемпестерол	0,38
2-феноксіетанол (домішка)	0,25	дигідрокумарин (мелітол)	1,60	стигмастерол	0,77
тетрадекан	0,14	олеїнова кислота	0,11	γ-ситостерол	3,08
пірол-2,5-діон	0,20	стеаринова кислота	0,13	β-амірин	0,14
пентадекан	0,11	лінолева кислота	1,65	лупеол	0,20
фітол	2,77	ліноленова кислота	0,85	α-амірин	0,15
додеканова кислота	0,27	пентакозан	0,26	октадекан	0,07
фталат	0,36	гептакозан	0,66	цис-неофітадієн	2,24
гексагідрофарнезиллацетон	0,46	ізопропіллаурат (домішка)	0,25	Невизначені компоненти	17,12
дигідроактиндіолід	0,30	октакозан	0,19		
кумарин	13,13	пентадеканова кислота	0,16		

Таблиця 2

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

Компонент	(%)	Компонент	(%)	Компонент	(%)
3-метилбутанон-2	0,20	кетоізофорон	0,05	ванілін	0,23
метилізопропенілкетон	0,43	пара-оксіацетофенон	0,06	6-метилкумарин	0,39
гексеналь	0,10	2-феноксіетанол	0,46	кумарин	79,38
ізовалеріанова кислота	0,15	пальмітинова кислота	0,14	дигідроактини-діолід	0,72
2-гексеналь	0,07	саліцилова кислота	0,89	3-окси-β-дамаскон	2,96
метил-пара-оксибензоат	0,10	2-метокси-4-вінілфенол	0,13	9-оксононанова кислота-6	0,68
капронова кислота	0,33	фурфурол	0,28	2-окси-β-дамаскон	0,34
транс-2-гептеналь	0,03	дигідрокумарин	4,95	бензальдегід	0,23
2-гексенова кислота	0,07	бензиловий спирт	0,07	ізоліолід	0,19
3-етил-4-метил-1H-пірол-2,5-діон	0,55	саліциловий альдегід	0,54	4-окси-3,5,5-триметил-4-(3-оксо-1-бутеніл)-2-циклогексен-1-он	0,11
бутиролактон	0,07	γ-капролактон	0,03	лоліолід	0,82
5-метилфурфурол	0,01	каприлова кислота	0,11	нонакозан	0,16
2,4-гептадієналь	0,03	мальтол	0,51	фенілацетальдегід	0,14
6-метил-3,5-гептадієн-2-он	0,02	β-фенілетилловий спирт	0,08	Неідентифіковані компоненти	3,12

Амінокислотний склад сировини *Medicago falcata L. subsp. romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink

Компонент	%	Компонент	%	Компонент	%	Компонент	%
Аргінін	2,30	Серин	4,71	Аланін	2,41	Фенілаланін	9,77
Аспарагінова кислота	20,25	Глутамінова кислота	3,39	Пролін	19,88	Ізолейцин	2,20
Оксипролін	3,12	Треонін	4,67	Метіонін	0,74	Лейцин	4,57
Глутамін	0,64	Гліцин	6,58	Валін	3,86	Цистеїн	1,56
Гістидин	4,60	Тірозин	4,18	Лізін	0,57		

Висновки

1. Визначали діагностичні анатомічні ознаки рослини *Medicago falcata L. subsp. romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink. Черешок листка мав такі діагностичні ознаки: клітини епідерми видовжені паренхімні або прозенхімні, 4-, рідше 5–6 кутні; опушення трихомами у вигляді простих одноклітинних волосків із бородавчастою кутикулою, котрі можна побачити на верхній і нижній епідермі листка; продири трапляються нечасто; наявність розетки, що утворена базисними епітеліальними клітинами, біля основи волосків.

2. При хроматографуванні нативної сировини *Medicago falcata L. subsp. romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink знайдено 66 компонентів, з яких ідентифікували 38 сполук. Серед них – дигідрокумарину 1,60% і кумарину 13,13%.

3. Методом газорідної хроматографії після здійснення кислотного гідролізу визначили 52 сполуки, з

них ідентифікували 41. У сировині *Medicago falcata L. subsp. romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink містилася низка біологічно активних речовин первинного синтезу – спирти, альдегіди, кетони. Похідних 4-оксикумарину: кумарину – 79,38%, дигідрокумарину – 4,95% і 6-метилкумарину – 0,39%.

4. При вивченні амінокислотного складу надземної частини *Medicago falcata L. subsp. romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink нас зацікавили вагомими кількостями аспарагінової кислоти, проліну та фенілаланіну.

На нашу думку, повинно бути кореляційне співвідношення між кількостями сполук, що ідентифіковано в екстрактах з рослини, котру вивчаємо, значеннями кількостей амінокислот і, відповідно, – кількостями похідних 4-оксикумарину.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Список літератури

1. Агрокарта України, карта посівів, посівні площі, агросправочник online, агрокарта [Електронний ресурс] // Агрокарта України 2014. – Режим доступу: <http://www.4sg.com.ua>.
2. Гречана О.В. Амінокислотний аналіз сировини *medicago falcata l. Subsp. Romanica* (prodan) o. Schwarz & klink / О.В. Гречана // Науковий вісник міжнародного гуманітарного університету. – 2014. – №8. – С. 50–52.
3. Петрук В.А. Продуктивність люцерни на корм і семена / В.А. Петрук // Аграрная наука. – 2008. – №2. – С. 16–18.
4. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы / Р.П. Барыкина, Т.Д. Веселова, А.Г. Девятков и др. – М.: МГУ, 2004. – 312 с.
5. Free radical scavenging activities of polyphenolic compounds isolated from *Medicago sativa* and *Medicago truncatula* assessed by means of thin-layer chromatography DPP rapid tests / L. Cieřla, I. Kowalska, W. Oleszek et al. // *Phytochemical Analysis*. – 2013. – Т. 24. – №1. – Р. 47–52.
6. Grechana O.V. The Study of Free Coumarins in the Plant Raw Material of *Medicago Falcata L. subsp. Romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink / O.V. Grechana // Вісник фармації. – 2014. – №1(77). – Vol. 10. – С. 40–44.
7. Investigation of antiradical activity of plant material by thin-layer chromatography with image processing / M. Olech, Ł. Komsta, R. Nowak et al. // *Food Chemistry*. – 2012. – №132. – Р. 549–553.
8. Structure-activity relationships of new 4-hydroxy – bis-coumarins as radical scavengers and chain-breaking antioxidants / V.D. Kancheva, P.V. Boranova, J.T. Nechev et al. // *Biochimie*. – 2010. – №92. – Р. 1138–1146.

References

1. (2014) Ahrocarta Ukrainy, karta posiviv, posivni ploshchi, ahrospravochnyk online, agromap [Agronomic map of Ukraine, sowings map, crop areas, agronomy handbook online, agromap]. Retrieved from <http://www.4sg.com.ua>.
2. Grechana, O. V. (2014) Aminokyslotnyi analiz syrovyny *medicago falcata l. Subsp. Romanica* (prodan) o. Schwarz & klink [Aminoacid Analysis of Raw Materials *Medicago falcata L. subsp. romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink]. *Naukovi visnyk mizhnarodnoho humanitarnoho universytetu*, 8, 50–52. [in Ukrainian].
3. Petruk, V. A. (2008) Produktivnost' lyucerny na korm i semena [Alfalfa productivity on forage and seeds]. *Agrarnaya nauka*, 2, 16–18. [in Russian].
4. Barykina, R. P., Veselova, T. D., Devyatov, A. G., Dzhililova, Kh. Kh., Il'ina, G. M., & Chubatova, N. V. (2004) *Spravochnik po botanicheskoy mикротekhnike. Osnovy i metody*. [Reference Botanical Microtechnology. Fundamentals and Methods]. Moscow: MGU. [in Russian].
5. Cieřla, L., Kowalska, I., Oleszek, W., & Stochmal, A. (2013) Free radical scavenging activities of polyphenolic compounds isolated from *Medicago sativa* and *Medicago truncatula* assessed by means of thin-layer chromatography DPP rapid tests. *Phytochemical Analysis*, 24(1), 47–52. doi: 10.1002/pca.2379.
6. Grechana, O. V. (2014) The Study of Free Coumarins in the Plant Raw Material of *Medicago Falcata L. subsp. Romanica* (Prodan) O. Schwarz & Klink. *Visnyk farmatsii*, 1(77), 10, 40–44. [in Ukrainian].

7. Olech, M., Komsta, L., Nowak, R., Ciesla, L., Waksmundzka-Hajnos, M. (2012) Investigation of antiradical activity of plant material by thin-layer chromatography with image processing. *Food Chemistry*; 132, 549–553. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.10.067.
8. Kancheva, V. D., Boranova, P. V., Nechev, J. T., & Manolov, I. I. (2010) Structure-activity relationships of new 4-hydroxy – bis-coumarins as radical scavengers and chain-breaking antioxidants. *Biochimie*, 92, 1138–1146. doi: 10.1016/j.biochi.2010.02.033.
-

Відомості про авторів:

Гречана О. В., канд. фарм. наук, старший викладач каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, E-mail: 1310grechanaya@ukr.net.

Тржецинський С. Д., д-р біол. наук, доцент, зав. каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет.

Сведения об авторах:

Гречаная Е. В., канд. фармацевт. наук, старший преподаватель, каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: 1310grechanaya@ukr.net.

Тржецинский С. Д., д-р биол. наук, доцент, зав. каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники, Запорожский государственный медицинский университет.

Information about authors:

Grechana O. V., MD, PhD, Senior Lecturer, Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University E-mail: 1310grechanaya@ukr.net.

Trzhetsinskiy S. D., MD, PhD, DSci, Head of Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University

Надійшла в редакцію 15.03.2016 р.