

БЕЛЛА КИКАЛИШВИЛИ, ЦИСАНА СУЛАКВЕЛИДЗЕ, МАРИАМ МАЛАНИЯ,
ДУРМИШХАН ТУРАБЕЛИДЗЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПИДНОГО СОСТАВА И НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ СЕМЯН СОИ (*GLYCINE HISPIDA* MAXIM) ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В ГРУЗИИ

Тбилисский государственный медицинский университет; Институт фармакохимии им. И.
Кутателадзе; Тбилиси, Грузия

BELA KIKALISHVILI, TSISANA SULAKVELIDZE, MARIAM MALANIA,
DURMISHKHAN TURABELIDZE

LIPIDS AND SOME BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES OF *GLYCINE HISPIDA* MAXIM SEED'S
OIL GROWING IN GEORGIA

Tbilisi State Medical University; Kutateladze Institute of Pharmacochemistry; Tbilisi. Georgia.

SUMMARY

*The aim of the presented work is study of lipids and some biological active substances of *Glycine hispida Maxim L.* seed's oil, collected in the west Georgia. Cold pressing extraction were implemented. According to the standard procedures in seed's oils samples are analyzed fatty acids: tetradecanoic acid 0.06%, hexadecenoic acid 13,09%, hexadecenoic acid 0,07%, heptadecanoic acid 0,09%, octadecanoic acid 4,1%, 9- octadecenoic acid 26,12%, 9,12 octadecadienoic acid 52,48%, eicosanoic acid 0,32%, eicosadienoic acid 0,41%.*

*According to obtained results, it was established, that the chromatographic profile of growing in Georgia *Glycine hispida Maxim L.* is rich with very important biological active components and fatty acid composition which are very necessary in medical production and high-quality cosmetics.*

Keywords: Biological active substances, Lipids, fatty acid composition.

Как известно, современные методы спектрального анализа позволяют определить не только химический состав, но и структуру анализируемых веществ. Экология, почвенно-климатические условия, ареал обитания все эти составляющие определенным образом влияют на химический состав растений.

С целью выявления новых перспективных объектов, содержащих биологически и фармакологически активные компоненты, в ТГМУ, института Фармакохимии им. И.Кутателадзе постоянно проводится скрининг культивируемых и эндемичных видов растений, произрастающих на территории Грузии, которые в последствие могут быть предложены в виде лекарственного сырья для создания новых лекарственных и парфюмерно-косметологических средств [3,5,6,9,14].

В результате исследовательских работ, проведенных в направлении липидов и антрахинонов института Фармакохимии, связанных с оценкой результатов качественного и количественного анализов состава суммы липидов, а также отдельных биологически активных компонентов, наибольший интерес вызвала композиция, полученная из широко распространенного в Западной Грузии (в основном регионы Имеретии) стручкового растения - сои (*Glycine hispida Maxim*–семейство *Fabaceae*) [17].

Соя (*Glycine hispida Maxim*) является однолетним стручковым растением, с разветвленным стеблем длиной до 50 см. Встречается на берегу рек; опушках лесонасаждений; песчаных, каменистых и суглинистых склонах; иногда образует небольшие заросли. Размножается семенами и дает обильную поросль. Плоды собирают в период полной зрелости (июль – август).

В химический состав сои на ряду с липидами входят в большом количестве флавоноиды и циклоартановые тритерпеноиды [9]. Соевое масло, содержит до 34-40% белков и 20-30% углеводов, а также витамины, смолы, аминокислоты, каротиноиды, жирные кислоты, комплекс фосфолипидов, флавоноиды и микроэлементы.

Масло семян сои обладает хорошо выраженными лечебно-профилактическими свойствами и достаточно широко используется в народной и практической медицине. Играет важную роль при

лечении и профилактике сердечно-сосудистых заболеваний. Обладает положительным влиянием на функциональное состояние печени, желудка и кишечного тракта, а также используется для профилактики атеросклероза, сахарного диабета, онкологических заболеваний и нарушений обмена веществ. При регулярном употреблении значительно снижает уровень холестерина в крови, предупреждает почечно-каменные заболевания, стимулирует перистальтику кишечника и улучшает общий метаболизм. Является легко усвояемым средством. Снижает процессы старения и ускоряет регенерацию кожной ткани. Применяется при ожогах и механических повреждениях кожи, а также широко используется в косметике, оказывает смягчающее и восстанавливающее действие при нарушениях эластичности кожи, делая ее бархатистой и упругой, предотвращая потерю влаги [13,8].

Целью наших исследований было изучение липидной композиции и некоторых биологически активных веществ в масле семян сои, произрастающей в Западной Грузии.

Материал и методы исследования. Объектом исследования является масло семян сои (*Glycine hispida Maxim*), собранных в период полной зрелости в Западной Грузии.

После воздушного высушивания, семена экстрагировали *n*-гексаном. Получали нейтральные липиды маслообразной консистенции жёлтого цвета. Разделение проводили методом одномерной тонкослойной хроматографии. Подвижная фаза: петролейный эфир, диэтиловый эфир и ледяная уксусная кислота в соотношении 85:14:1. TLC Silica gel F254 (20 cm × 20 cm, Merck, Darmstadt, Germany).

Толщина покрытия – 0,5 мм. Детектирование осуществлено парами йода и 30% серной кислотой, в процессе идентификации учитывались R_f параметры свидетелей. [1,4,10].

Полярные липиды были извлечены из оставшегося шрота экстракцией смесью хлороформ-метанол, в виде густой консистенции жёлто-коричневого цвета. В сумме полярных липидов качественный анализ на содержание фосфолипидов проводили методом двухмерной хроматографии, в котором 1-ая подвижная фаза содержала хлороформ, метанол, 25% амиак (65:30:5), а 2-ая подвижная фаза-хлороформ, метанол, ледяную уксусную кислоту и воду (170:25:25:6). Неподвижной фазой служили TLC Silica gel F254 (20 cm × 20 cm, Merck, Darmstadt, Germany). Толщина покрытия – 0,5 мм. Детектирование осуществлялось парами йода и реактивом Васковского. В процессе идентификации учитывались R_f параметры свидетелей.

В семенах сои проведен качественный анализ аминокислот. Аминокислоты экстрагировали 80% этанолом и в дальнейшем хроматографировали в присутствии свидетелей на силикагелевых пластинках. Подвижная фаза содержала бутанол, ледяную уксусную кислоту и воду (6:2:2). Проявитель - 1,0% нингидрин.

Качественная идентификация наличия каротиноидов в суммарном объеме нейтральных липидов осуществлялась методом окрашивания, а количественное определение последующей спектрометрией на волне $\lambda=451$ нм. [4,18].

Экстракция нейтральных липидов. Семена сои, собранные в период полной зрелости, после воздушного высушивания, четырехкратно экстрагировали *n*-гексаном при температуре 20 - 22°C в соотношении 1:5 и сгущали до маслообразной консистенции желтоватого цвета на вакуум – ротационном аппарате при температуре 60°C. Выход нейтральных липидов составлял 28%. Разделение проводили методом тонкослойной хроматографии.

В масле семян сои идентифицированы следующие классы веществ: углеводороды, триглицериды, жирные кислоты, стеринны и определены физико-химические показатели: удельный вес d_4^{20} - 0,910; кислотное число 2,6 мг (KOH) г; йодное число 110%; показатель преломления D_n^{20} -1,473 [4].

Процесс метилирования. Согласно Sukhija and Palmquist, процесс имел одноступенчатый характер и проводился в стеклянных сосудах метиловым раствором соляной кислоты при температуре 70°C в течение 2 часов. Хромато-масс анализ метиловых эфиров жирных кислот проведён на газовом хроматографе Agilent technologies 7890 B, оснащённом автоматическим инжектором-дозатором, соединённым с капиллярной колонкой (30м x 250м x 25м) HP - 5 ms Ultra Inhert и масс-спектрометрическим детектором Agilent. Температура инжектора 280°C, детектора 280°C. Начальная температура колонки 60°C две минуты, с ростом температурного режима 2,5

градусов в минуту до 100°C и последующим ростом температурного режима 7,0 градусов в минуту до 280°C. Температура детектора 280°C. Анализ полученных данных и идентификация проведены согласно NIST базы данных [11,15,16].

Экстракция полярных липидов. Полярные липиды были извлечены из оставшегося шрота четырехкратной экстракцией смесью хлороформ-метанол (2:1). Экстракты сливались и доводились до густой консистенции вакуум-ротационным испарителем. Суммарный количественный выход соответствовал 2,1%. Качественный анализ на содержание фосфолипидов проведен методом двухмерной хроматографии. Качественно обнаружены следующие фосфолипиды: лизофосфатидилинозит, фосфатидилинозит, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, N-ациллизифосфатидилэтаноламин.

Количественная оценка фосфолипидов. В исследуемом материале количественная оценка фосфолипидов, согласно неорганическому фосфору, проведена методом спектрофотометрии (Nano – Spec 2) при длине волны $\lambda=620$ нм. [12]. В суммарном объеме полярных липидов количественно идентифицированы следующие фосфолипиды: фосфатидилинозит-0,33%; фосфатидилхолин-0,78%; фосфатидилэтаноламин-0,56%; N – ациллизифосфатидилэтаноламин 0,19%.

Анализ аминокислот. В семенах сои проведен качественный анализ аминокислот. Аминокислоты экстрагировали 80% этанолом и в дальнейшем хроматографировали в присутствии свидетелей (набор аминокислот) на силикагелевых пластинках [4]. Сравнительная оценка R_f исследуемого материала с данными свидетелей подтвердила наличие следующих аминокислот: аргининовой, аспарагиновой, аланиновой, сериновой, метиониновой, валиновой, лейциновой.

Анализ каротиноидов. Качественная идентификация наличия каротиноидов в суммарном объеме нейтральных липидов осуществлена методом цветной реакции, а количественное определение последующей спектрометрией на волне $\lambda=451$ нм. Количественное содержание каротиноидов в масле семян сои составляло 6,1 мг% [18]. В масле семян сои также качественно обнаружен витамин E.

Результаты и их обсуждения

В виду того, что жирные кислоты являются нелетучими или малолетучими веществами, перед газо-жидкостным хроматографическим разделением их превращали в эфирные производные. Метилирование осуществлено согласно методике [11].

Таблица N1. Жирнокислотная композиция масла семян сои.

Кислоты	Время удерживания	Площадь (мм ²)	Содержание %
тетрадекановая	21.995	48914.08	0,06
гексадекановая	27.358	10268543.78	13,09
гексадеценная	29.230	50200.63	0,07
гептадекановая	29.848	71615.52	0,09
октадекановая	32.258	3213635.25	4,1
октадецен-9-овая	31.679	20491667.71	26,12
октадекадиен-9,12-овая	32.253	41179415.02	52,48
эйкозановая	36.755	248126.75	0,32
докозановая	40.921	322848.87	0,41

На **таблице 1** показана композиция жирно кислотного содержания масла семян сои (*Glycine hispida Maxim*), собранного в период зрелости (западные регионы Грузии). Масло имеет сложную структуру, содержит полиеновые и моноеновые жирные кислоты, из которых количественно идентифицированы девять жирных кислот (тетрадекановая, гексадекановая, гексадеценная, гептадекановая, октадекановая, октадецен-9-овая, октадекадиен-9,12-овая, эйкозановая, докозановая) обычно присутствующих в маслах растительного происхождения. Таким образом, жирнокислотный состав масла сои содержит исключительно необходимые для жизнедеятельности

организма компоненты, из которых качественно и количественно хроматографически идентифицированы три ненасыщенных и шесть насыщенных жирных кислот.

Из них особое внимание заслуживает гексадекановая кислота, содержание которой в исследуемом масле достигает 13,09%, что говорит о масле семян сои как об особо перспективном масле для фармации, парфюмерном - косметологическом аспектах, но и в форме биологически активной добавки. Содержание докозановой и ейкозановой кислот, также играющих важную роль в жизнедеятельности организма, относительно высокое их содержание в масле: 0,41% и 0,32% соответственно.

Заслуживает внимания достаточно высокий уровень октадекановой кислоты (4,1%). Указанный уровень ее содержания может иметь практическое значение в вопросах этерификации. Метилстеараты, как жировая основа, необходимы для создания некоторых лекарственных форм, стандартизированных лекарственных смесей лечебно-профилактического значения.

Количество тетрадекановой (0,06%) и гептадекановой кислот (0,09%) незначительно и могут быть отнесены к жирным кислотам, входящих в состав большинства растительных масел. Достоверное же различие их содержания в масле ($p < 0,05$) в определенном мере может быть связано с экологическими и климатическими условиями их произрастания.

Суммарное содержание ненасыщенных жирных кислот значительно преобладает над количественным содержанием насыщенных. В масле сои идентифицированы две мононенасыщенные и одна полиненасыщенная жирная кислота, суммарное содержание которых превышает 78,0%-ов от общего объема жирнокислотной субстанции ($p < 0,01$), что позволяет на основании хроматографического анализа отнести их к достаточно распространенной группе масел растительного происхождения - олеино-линоленово жирнокислотным маслам.

В группе мононенасыщенных жирных кислот масла семян сои значительно доминирует октадецен-9-овая кислота, количество которой достигает 26,12%, в то время как количество гексадеценной кислоты не превышает 0,07%. Обе кислоты являются представителями класса незаменимых кислот, подчеркивающие его натуральность и ценность. Учитывая, что незаменимые жирные кислоты, которые содержат минимум одну двойную связь на расстоянии более девяти атомов углерода от карбоксильной группы все-таки не способны к самостоятельному синтезу в организме, поэтому необходим дополнительный источник поступления. Именно масло семян сои является таким незаменимым биологическим продуктом [17].

Рандомизированные клинические испытания подтверждают необходимость вышеуказанных кислот организму человека и животных, т.к. совместно с линолевой кислотой считаются важными основой большинства питательных продуктов [2].

Согласно ТСХ анализу, полиненасыщенная октадекадиен-9,12-овая кислота является основной жирнокислотной составляющей (52,48%) масла сои, которая, подобно классу ненасыщенных жирных кислот, выполняет ведущую роль в процессах функционирования субклеточных мембран.

Как видно из результатов проведенных исследований, масло из семян сои представляет собой невысыхающее растительное масло, содержащее ненасыщенные кислоты и важные биологические компоненты в виде следующих классов веществ: углеводороды, триглицериды, стерины, каротиноиды, аминокислоты и витамины.

Совокупность жирнокислотного состава масла семян сои с биологически активными компонентами (витамины, аминокислоты, каротиноиды), входящими в его состав, придает ему лечебные свойства, установлено исключительно важное значение для человеческого организма, которое включает в себя ответственность за рост и обновление клеток, имеет полноценное питательное значение.

Благодаря незаменимым жирным кислотам, масло может обладать способностью эффективно выводить радионуклеиды и тяжелые металлы из организма, что особенно важно для экологически загрязненных районов [7].

На его основе приготовленные препараты могут найти применение не только в медицине, но и в парфюмерно - косметической практике.

ლიტერატურა:

1. Darrin L., Smith N. Mass Spectrometry Applications in Forensic Science. Encyclopedia of Analytical Chemistry. John Wiley. Sons LTD. New York City. 2010. https://doi.org/10.1002/9780470027318_a9121.
2. Dhellot G., Matouba E. Extracion chemical composition nutrition characterization of vegetable oils. // African Biotechnol. 2006; 5(11): 1095-1101.
3. Gagnidze R. Vascular plants of Georgia, a nomenclatural checklist. Tbilisi. 2005:96-97
4. Kates M. Techniques of Lipidology: Isolation, Analysis and Identification of Lipids. M. 1975.
5. Kikalishvili B., Sulakvelidze Ts. et.al. Study of Lipid composition of some plants growing in Georgian //International Academy Journal. Web of Scholar. JSSN. 2018-167-24.3 (33):19-21
6. Kikalishvili B., Zurabashvili D., et.al. Study of Lipids seed's oil of vitex agnus castus growing in Georgia. //Georg.Med.New. N7-8 (256-257) 2016:77-81.
7. Prasad R. Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition. Academic Press. London. 2012. (5668).
8. Samuelsen J. //Ethnopharmacol., 71.1 (2009).
9. Shalashvili K., Sutiashvili M., et.al. Results of Preliminary study of Plants of Georgian Flora for the content of Flavonoids and triterpenoids. //Georg.med.New. N9 (294) 2019:171-181.
10. Sponngord R.Y., Sum M. Enhancement of an analytical method for the determination oils in viecine adsorbed formulation. //J.Parm/biomed Anal. 2008; 52: 554-556.
11. Sukhija P.S., Palmquist D. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. //J.Agric.Food Chem. 1988; 36:1202-1206.
12. Государственная фармакопея России XIII изд. 2015.
13. Дятловская Э.В., Липиды как биоэффекторы. //Вестии Росс. Аиад. Мед.наук. 2018, 2:84-90
14. Еленевский А.Г., Соловьева В. И. и др. //Ботаника. Систематика высших надземных растений. М, 2016, 520.
15. Зурабашვილი ზ.ა., სუნიოვა ი.ა. კნ. ტონკოსლოინა ხრომატოგრაფია პოდ ვისოკიმ დავლიემ ვ ანალიზე რასტიტელნოგო სურყა. М, 1989, 224სტ.
16. Карлин И.П., Семкин Е.П. Определение вида масел методом хроматографии. М.Министр Юстиции и судебной экспертизы. Методическое письмо. 2010; 50.
17. Петибская В.С. Соя-химический состав и использование. Майкоп. ОАО полиграф. ЮГ. 2012.
18. ФС.42.1052-76.

ბელა კიკალიშვილი, ცისანა სულაქველიძე, მარიამ მალანია, დურმიშხან ტურაბელიძე
საქართველოში მოზარდი სოიოს თესლის (*Glycine hispida Maxim*) შესწავლა ლიპიდების და
ზოგიერთი ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების შემცველობაზე
 თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; იოველ ქუთათელაძის ფარმაცოქიმიის
 ინსტიტუტი; თბილისი, საქართველო.

რეზიუმე

საქართველოში მოზარდი მცენარეების ფიტოქიმიური გამოკვლევების პერსპექტიულობა დამოკიდებულია არა მარტო მათ მრავალსახეობაზე, არამედ გეოგრაფიულ ადგილმდებარეობასა და ეკოლოგიურ მდგომარეობაზე, რაც მნიშვნელოვნად აისახება ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების თვისობრივ შემადგენლობასა და რაოდენობრივ შემცველობაზე.

კვლევის მიზანია ლიპიდური კომპოზიციისა და ზოგიერთი ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების შესწავლა საქართველოს, კერძოდ დასავლეთ რეგიონებში მოზარდი სოიოს (*Glycine hispida Maxim*) თესლებში.

სოიოს თესლის ზეთში თვისობრივად და რაოდენობრივად იდენტიფიცირებულია ნეიტრალური და პოლარული ლიპიდები, კაროტინოიდები, ამინომჟავები და ზოგიერთი ვიტამინები. ცხიმოვანი მჟავების კომპოზიციიდან სოიოს თესლის ზეთში რაოდენობრივად

განსაზღვრულია ტეტრადეკანის, ჰექსადეკანის, ჰექსადეცენის, ჰეპტადეკანის, ოქტადეკანის, 9-ოქტადეცენის, 9,12-ოქტადეკადიენის, ეიკოზანის, დოკოზანის მჟავები.

ნაჩვენებია, რომ საქართველოში კულტივირებული სოიოს თესლის ზეთი მიეკუთვნება ოლეინო-ლინოლენის ჯგუფის ზეთებს, არანაჯერი ცხიმოვანი მჟავების მაღალი შემცველობით. იგი მდიდარია ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებებით: ნახშირწყალბადები, ტრიგლიცერიდები, სტერინები, კაროტინოიდები, ამინომჟავები და ვიტამინები, რაც ანიჭებს საქართველოში მოზარდი სოიოს ზეთს დიდ მნიშვნელობას და შემდგომში მის შესაძლო გამოყენებას, როგორც სამედიცინო პრაქტიკაში, ასევე პარფიუმერია-კოსმეტოლოგიაში.

*БЕЛЛА КИКАЛИШВИЛИ, ЦИСАНА СУЛАКВЕЛИДЗЕ, МАРИАМ МАЛАНИЯ,
ДУРМИШХАН ТУРАБЕЛИДЗЕ*

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПИДНОГО СОСТАВА И НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СЕМЯН СОИ (GLYCINE HISPIDA MAXIM) ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В ГРУЗИИ

Тбилисский государственный медицинский университет; Институт фармакохимии им. И. Кутателадзе; Тбилиси, Грузия

РЕЗЮМЕ

Перспективность фитохимических исследований растений, произрастающих в Грузии связана с многочисленным видовым многообразием растительных источников, необходимых для лекарственных препаратов и также экологическим ареалом их произрастания, который значительно влияет на качественный и количественный состав биологически активных соединений.

Целью исследования является анализ липидной композиции и содержания некоторых биологически активных веществ в масле семян сои, произрастающей в западных регионах Грузии.

В масле семян сои качественно и количественно идентифицированы нейтральные и полярные липиды, каротиноиды, аминокислоты и ряд витаминов. Из жирнокислотной композиции масла семян сои определено количественное содержание тетрадекановой, гексадекановой, гексадеценной, гептадекановой, октадекановой, октадецен-9-овой, октадекадиен 9,12-овой, ейкозановой, докозановой кислот.

Показано, что масло семян сои, произрастающей в Грузии, относится к группе олеино-линоленовым невысыхающим маслам с богатым содержанием полиненасыщенных жирных кислот. Наличие важных биологических компонентов в виде следующих веществ: углеводороды, триглицериды, стерины, каротиноиды, аминокислоты и витамины придают маслу семян сои особую значимость в аспекте создания фармацевтических и парфюмерно-косметологических лечебно-профилактических средств.

