

ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ФЕНОЛЬНИХ СПЛУК ТРАВИ *ASTRAGALUS DASYANTHUS* PALL.

Вступ. Під Астрагал (*Astragalus*) родини бобових (*Fabaceae*) є одним із найчисленніших та нараховує 2500–3500 видів. *Astragalus dasyanthus* Pall. (*A. dasyanthus*) – багаторічна трав'яниста рослина, рослинною сировиною якої є трава. Хімічний склад сировини досить різноманітний: полісахариди, слизи, органічні кислоти, тритерпенові сапоніни, флавоноїди, мінеральні сполуки. Витяжка з трави – популярний гіпотензивний, седативний, судинорозширювальний, сечогінний, протинабряковий, кровоспинний, протиблювотний засіб. Сировини вітчизняної заготівлі практично не досліджено. Тому актуальним було проведення фармакогностичного вивчення трави *A. dasyanthus*.

Мета дослідження – визначити компонентний склад гідроксикоричних кислот і флавоноїдів трави *A. dasyanthus* вітчизняної заготівлі.

Методи дослідження. Серії трави *A. dasyanthus* заготовляли протягом 2020–2021 рр. із приватних ділянок в Україні. Компонентний склад гідроксикоричних кислот і флавоноїдів визначали методом високо-ефективної рідинної хроматографії на рідинному хроматографі "Agilent Technologies 1200".

Результати й обговорення. Методом високоефективної рідинної хроматографії було вивчено компонентний склад трави *A. dasyanthus*, який представлений 5 гідроксикоричними кислотами і 8 флавоноїдами. З ідентифікованих гідроксикоричних кислот за кількісним вмістом домінувала хлорогенова кислота ((615,88±1,68) мкг/г), а з флавоноїдів переважали неогесперидин ((1885,06±1,04) мкг/г) і рутин ((1390,15±17,41) мкг/г).

Висновки. За допомогою високоефективної рідинної хроматографії визначено компонентний склад гідроксикоричних кислот і флавоноїдів трави *A. dasyanthus*, яку заготовлено в Україні. Встановлено, що з гідроксикоричних кислот трави *A. dasyanthus* домінує хлорогенова кислота ((615,88±1,68) мкг/г), а зі сполук флавоноїдної природи переважають неогесперидин ((1885,06±1,04) мкг/г) і рутин ((1390,15±17,41) мкг/г). Перспективним напрямком подальших досліджень є вивчення компонентного складу фенольних сполук серій трави *A. dasyanthus*, які заготовлено в різних регіонах України та з рослин різного віку.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: *Astragalus dasyanthus* Pall.; трава; гідроксикоричні кислоти; флавоноїди.

ВСТУП. Під Астрагал (*Astragalus*) родини бобових (*Fabaceae*) є одним із найчисленніших та нараховує 2500–3500 видів [1–3]. Відомо, що сировина астрагалів містить флавонової та флавонолової аглікони і глікозиди [4–6], тетрациклічні сапоніни, фітостероли [7–10].

Astragalus dasyanthus Pall. (*A. dasyanthus*) [11] – багаторічна трав'яниста рослина, рослинною сировиною якої є трава. Хімічний склад сировини досить різноманітний: полісахариди арабін і басорин, слизи, органічні кислоти, тритерпенові сапоніни (похідні циклоартану), флавоноїди (кемпферол, кверцетин, ізорамнетин та їх глікозиди) [12, 13], мінеральні сполуки (сполуки феруму, кальцію, алюмінію, фосфору, магнію, натрію, барію, силіцію, стронцію). Витяжка з трави – популярний гіпотензивний, седативний,

© О. П. Хворост, Є. Ю. Зудова, 2023.

судинорозширювальний, сечогінний, протинабряковий, кровоспинний, протиблювотний засіб при гіпертонії, артеріальній гіпертензії, стенокардії, гострому та хронічному гломерулонефриті, ревматизмі [12].

Сировини вітчизняної заготівлі практично не досліджено. Тому актуальним було проведення фармакогностичного вивчення трави *A. dasyanthus*, яку вирощено в Україні, та в рамках цього вивчення дослідити фенольні сполуки.

Мета дослідження – визначити компонентний склад гідроксикоричних кислот і флавоноїдів трави *A. dasyanthus* вітчизняної заготівлі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Траву *A. dasyanthus* заготовляли протягом 2020–2021 рр. із приватних ділянок з дворічних екземплярів у фазу масового цвітіння.

Методика визначення компонентного складу гідроксикоричних кислот [14].

Наважку сировини кожної проби 0,4–0,6 г екстрагували в 5 мл 60 % розчину метанолу на ультразвуковій бані при 80 °С упродовж 4 год у скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Отриманий екстракт центрифугували при 3000 об./хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Рідинну хроматографію проведено на рідинному хроматографі "Agilent Technologies 1200". Як рухоми фазу використовували метанол (А) і 0,1 % розчин мурашиної кислоти у воді (В). Елюювання виконували в градієнтному режимі: 0 хв – А (25 %) : В (75 %); 25 хв – А (75 %) : В (25 %); 27 хв – А (100 %) : В (0 %); 35 хв – А (100 %) : В (0 %). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-Aq (150×4,6 мм, 3,5 мкм) ("Agilent Technologies", США), швидкість потоку через колонку – 0,5 мл/хв, температура термостата – 30 °С, об'єм інжекції – 4 мкл. Детекцію здійснювали з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 250 і 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210–700 нм [14].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили із застосуванням стандартних розчинів фенольних сполук (галової кислоти, гідроксифеніл оцтової кислоти, хлорогенової кислоти, кофейної кислоти, сирінгової кислоти, *p*-кумарової кислоти, *транс*-ферулової кислоти, синапової кислоти, *транс*-цинамової кислоти, хінної кислоти).

Вміст сполук (X), мкг/г, визначали за формулою:

$$X = c \cdot V/m,$$

де *c* – концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, з якої проводили екстракцію, г.

Методика визначення компонентного складу сполук флавоноїдної природи методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [15].

Наважку сировини кожної проби 0,3–0,6 г екстрагували в 5 мл 70 % розчину етилового спирту на ультразвуковій бані при 80 °С упродовж 5 год у скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Отриманий екстракт центрифугували при 3000 об./хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Рідинну хроматографію проведено на рідинному хроматографі "Agilent Technologies 1200". Як рухоми фазу використовували ацетонітрил (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти у воді (В). Елюювання виконували в градієнтному режимі: 0 хв – А (30 %) : В (70 %); 20 хв – А (70 %) :

В (30 %); 22 хв – А (100 %) : В (0 %); 30 хв – А (100 %) : В (0 %). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (150×4,6 мм, 3,5 мкм) ("Agilent Technologies", США), швидкість потоку через колонку – 0,25 мл/хв, температура термостата – 30 °С, об'єм інжекції – 4 мкл. Детекцію здійснювали з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 280 і 365 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210–700 нм [1].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили із застосуванням стандартних розчинів флавоноїдів (рутину, ізокверцитрину, нарингину, неогесперидину, кверцетину, нарингеніну, кемпферолу, лютеоліну).

Кількість флавоноїдів (X), мкг/г, визначали за формулою:

$$X = c \cdot V/m,$$

де *c* – концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, з якої проводили екстракцію, г.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Зразок ВЕРХ-хроматограми гідроксикоричних кислот трави *A. dasyanthus* наведено на рисунку 1, а результати визначення їх компонентного складу – в таблиці 1.

У траві *A. dasyanthus* знайдено не менше 5 сполук, що є гідроксикоричними кислотами. У найвищій кількості виявлено хлорогенову кислоту ((615,88±1,68) мкг/г), що у 2,3 раза більше, ніж *транс*-ферулової ((268,16±0,76) мкг/г). Найнижчим був вміст сирінгової кислоти ((60,86±1,04) мкг/г), що в 10 разів менше порівняно з хлорогеновою.

Результати визначення компонентного складу сполук флавоноїдної природи наведено в таблиці 2.

У траві *A. dasyanthus* знайдено не менше 5 сполук флавоноїдної природи, з них 2 аглікони флавонової (лютеолін) та флавонолової (кемпферол) природи і 2 глікозиди групи кверцетину (рутин та ізокверцитрин), а також дихалкон неогесперидин. Високим був вміст неогесперидину (формула сполуки – рис. 2) ((1885,06±1,04) мкг/г) і рутину ((1390,15±17,41) мкг/г).

Неогесперидину в траві *A. dasyanthus* міститься майже в 1,4 раза більше, ніж рутину. До речі, зазвичай неогесперидин наявний в екзокарпії плодів цитрусових, наприклад грейпфрута. Отримують його при переробці плодів, переважно гіркого померанця. Має гарну стабільність, високу солодкість, приємний смак та стійкий післясмак, низьку калорійність і токсичність.

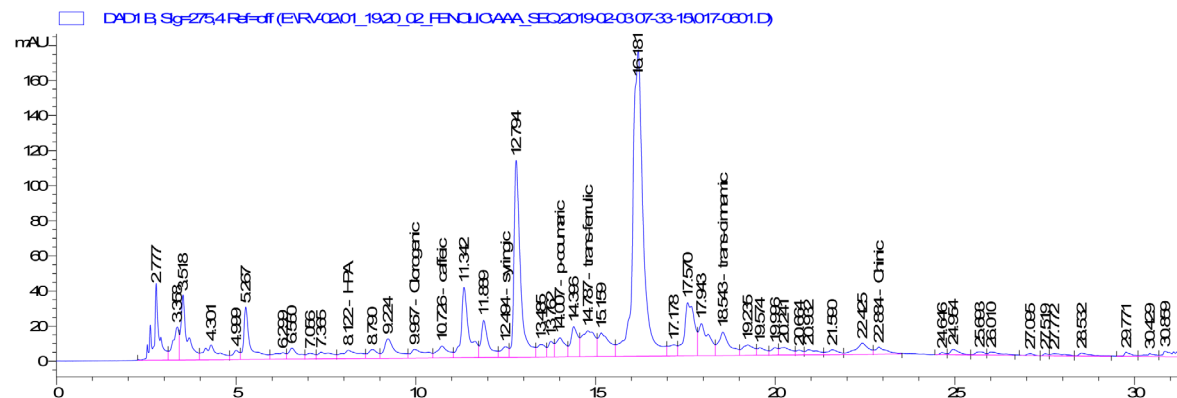


Рис. 1. Зразок ВЕРХ-хроматограми гідроксикоричних кислот трави *A. dasyanthus*.

Таблиця 1 – Компонентний склад гідроксикоричних кислот трави *A. dasyanthus* (n=5, мкг/г)

Назва сполуки	Кількісний вміст компонента у траві, мкг/г
Хлорогенова кислота	615,88±1,68
Кофейна кислота	189,72±1,48
Сирінгова кислота	60,86±1,04
<i>P</i> -кумарова кислота	143,92±0,84
<i>Транс</i> -ферулова кислота	268,16±0,76

Таблиця 2 – Компонентний склад сполук флавоноїдної природи трави *A. dasyanthus* (n=5, мкг/г)

Назва сполуки	Кількісний вміст компонента у траві, мкг/г
Рутин	1390,15±17,41
Кверцетин-3-β-О-D-глюкозид	141,39±1,29
Нарингін	0
Неогесперидин	1885,06±1,04
Кверцетин	0,00
Лютеолін	141,24±0,78
Нарингенін	0
Кемпферол	9,49±0,54

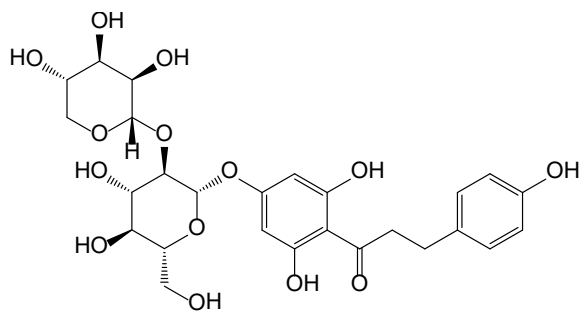


Рис. 2. Формула неогесперидину.

Вміст ізокверцитрину майже вдесятеро нижчий, ніж рутину, а вміст кемпферолу практично в 15 разів менший, ніж лютеоліну.

ВИСНОВКИ. 1. За допомогою ВЕРХ визначено компонентний склад гідроксикоричних кислот і флавоноїдів трави *A. dasyanthus*, яку заготовлено в Україні.

2. З гідроксикоричних кислот трави *A. dasyanthus* домінує хлорогенова кислота ((615,88±1,68) мкг/г), а зі сполук флавоноїдної природи переважають неогесперидин (1885,06±1,04 мкг/г) і рутин (1390,15±17,41 мкг/г).

3. Перспективним напрямком подальших досліджень є вивчення компонентного складу фенольних сполук серій трави *A. dasyanthus*, які заготовлено в різних регіонах України та з рослин різного віку.

Конфлікт інтересів: відсутній.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ethnobotanical knowledge of *Astragalus* spp.: The World's Largest Genus of Vascular Plants / M. S. Amiri, M. R. Joharchi, M. Nadaf, Y. Nasseh / *Avicenna J. Phytomed.* – 2020. – **10**. – P. 128–142.
2. A Review of Recent Research Progress on the *Astragalus* Genus / X. Li, L. Qu, Y. Dong [et al.] // *Molecules.* – 2014. – **19**. – P. 18850–18880.
3. Pistelli L. F. Secondary metabolites of genus *Astragalus*: Structure and biological activity / L. F. Pistelli // *Studies in Natural Products Chemistry.* – 2002. – 27 H. – P. 443–545. doi.org/10.1016/S1572-5995(02)80043-6.
4. Bratkov, V.M., Shkondrov, A.M., Zdraveva, P.K., Krasteva, I.N. Flavonoids from the Genus *Astragalus*: Phytochemistry and Biological Activity // *Pharmacogn. Rev.* – 2016. – **10** (19). – P. 11–32. DOI: 10.4103/0973-7847.176550
5. Krasteva I. Flavoalkaloids and Flavonoids from *Astragalus monspessulanus* / I. Krasteva, V. Bratkov, F. Bucar // *J. Nat. Prod.* – 2015. – **78**. – P. 2565–2571.
6. Gorai D. Flavonoids from *Astragalus* Genus / D. Gorai, S. K. Jash, R. Roy // *Int. J. Pharm. Sci. Res.* – 2016. – **7** (7). – P. 2732–2747. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.7(7).2732-47.
7. A new tetracyclic saponin from *Astragalus glycyphyllos* L. and its neuroprotective and HMAO-B inhibiting activity / A. Shkondrov, I. Krasteva, F. Bucar [et al.] // *Nat. Prod. Res.* – 2020. – Vol. 34. – P. 511–517.
8. Antiproliferative and antitumour activity of saponins from *Astragalus glycyphyllos* on myeloid graffi tumour / A. Georgieva, G. Popov, A. Shkondrov [et al.] // *J. Ethnopharmacol.* – 2021. – **267**. – P. 113519.
9. Ionkova I. Transformation of *Astragalus* species by agrobacterium *rhizogenes* and their saponin production / I. Ionkova, A. Alfermann / *Planta Med.* – 1990. – **56**. – P. 634–635.
10. Recent progress in phytochemistry, pharmacology and biotechnology of *Astragalus* saponins / I. Ionkova, A. Shkondrov, I. Krasteva [et al.] // *Phytochem. Rev.* – 2014. – **13**. – P. 343–374.
11. Lysiuk R. pharmacology and ethnomedicine of the genus *Astragalus* / R. Lysiuk, R. Darmohray // *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine Submitted.* – 2016. – **3**. – P. 46–53. doi:10.18052/www.scipress.com/IJPPE.3.
12. *Astragalus*-containing Chinese herbal medicine combined with chemotherapy for cervical cancer: A systematic review and meta-analysis / L. Shen, S. R. Gwak, Z. Y. Cui [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2021. – **12**. – P. 587021.
13. A review of recent research progress on the *Astragalus* genus / Li. Xiaoxia, Qu. Lu, Dong Yongzhe [et al.] // *Molecules.* – 2014. – **19**. – P. 18850–18880. DOI: 10.3390/molecules191118850.
14. Seeram N. P. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry / N. P. Seeram // *Food Chemistry.* – 2006. – **97**, No. 1. – P. 1–11.
15. Justesen U. Determination of plant polyphenols in Danish food stuffs by HPLC-UV and LC-MS detection / U. Justesen, P. Knuthsen, T. Leth // *Cancer Letters.* – 1997. – **114**, No. 1–2. – P. 165–167.

REFERENCES

1. Amiri, M.S., Joharchi, M.R., Nadaf, M., Nasseh, Y. (2020). Ethnobotanical Knowledge of *Astragalus* spp.: The World's Largest Genus of Vascular Plants. *Avicenna J. Phytomed.*, 10, 128-142.
2. Li, X., Qu, L., Dong, Y., Han, L., Liu, E., Fang, S., Zhang, Y., Wang, T.A (2014). Review of Recent Research Progress on the *Astragalus* Genus. *Molecules*, 19, 18850-18880.
3. Pistelli, L.F. (2002). Secondary metabolites of genus *Astragalus*: Structure and biological activity. *Studies in Natural Products Chemistry*. 27H, 443-545. doi.org/10.1016/S1572-5995(02)80043-6.
4. Bratkov, V.M., Shkondrov, A. M., Zdraveva, P.K., Krasteva, I.N. (2016). Flavonoids from the Genus *Astragalus*: Phytochemistry and Biological Activity. *Pharmacogn Rev.*, 10 (19), 11-32. DOI: 10.4103/0973-7847.176550
5. Krasteva, I., Bratkov, V., Bucar, F., Kunert, O., Kollroser, M., Kondeva-Burdina, M., Ionkova, I. (2015). Flavoalkaloids and Flavonoids from *Astragalus monspessulanus*. *J. Nat. Prod.*, 78, 2565-2571.
6. Gorai, D., Jash, S.K., Roy, R. (2016). Flavonoids from *Astragalus* Genus. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 7 (7), 2732-2747. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.7(7).2732-47.
7. Shkondrov, A., Krasteva, I., Bucar, F., Kunert, O., Kondeva-Burdina, M., Ionkova, I. (2020). A New Tetracyclic Saponin from *Astragalus glycyphyllos* L. and Its Neuroprotective and HMAO-B Inhibiting Activity. *Nat. Prod. Res.*, 34, 511-517.
8. Georgieva, A., Popov, G., Shkondrov, A., Toshkova, R., Krasteva, I., Kondeva-Burdina, M., Manov, V. (2021). Antiproliferative and antitumour activity of saponins from *Astragalus glycyphyllos* on myeloid graffi tumour. *J. Ethnopharmacol.*, 267, 113519.
9. Ionkova, I., Alfermann, A. (1990). Transformation of *Astragalus* Species by *Agrobacterium Rhizogenes* and Their Saponin Production. *Planta Med.*, 56, 634-635.
10. Ionkova, I., Shkondrov, A., Krasteva, I., Ionkov, T. (2014). Recent Progress in Phytochemistry, Pharmacology and Biotechnology of *Astragalus* Saponins. *Phytochem. Rev.*, 13, 343-374.
11. Lysiuk, R., Darmohray, R. (2016). Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus*. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine Submitted.*, 3, 46-53. DOI:10.18052/www.scipress.com/IJPPE.3.
12. Shen, L., Gwak, S.R., Cui, Z.Y., Joo, J.C., Park, S.J. (2021). *Astragalus*-Containing Chinese Herbal Medicine Combined With Chemotherapy for Cervical Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front. Pharmacol.* 12, 587021.
13. Xiaoxia, Li, Lu Qu, Yongzhe, Dong, Lifeng, Han, Erwei, Liu, Shiming, Fang, Yi Zhang, Tao Wang. (2014).

A Review of Recent Research Progress on the *Astragalus* Genus. *Molecules.*, 19, 18850-18880. doi: 10.3390/molecules191118850.

14. Seeram, N.P. (2006). Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography

electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry.*, 97(1), 1-11.

15. Justesen, U., Knuthsen, P., Leth, T. (1997). Determination of plant polyphenols in Danish food stuffs by HPLC-UV and LC-MS detection. *Cancer Letters.*, 114 (1-2), 165-167.

Отримано 18.08.2023

Адреса для листування: О. П. Хворост, вул. Р. Ейдемана, 8, кв. 54, Харків, 61008, Україна, e-mail: khvorost09101960@gmail.com.

O. P. Khvorost, E. Yu. Zudova
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

STUDY OF THE COMPONENT COMPOSITION OF THE PHENOLIC COMPOUNDS OF THE HERB *ASTRAGALUS DASYANTHUS* PALL.

Summary

Introduction. The genus *Astragalus* of the Fabaceae family is one of the most numerous and has 2.500–3.500 species. *Astragalus dasyanthus* Pall. (*A. dasyanthus*) is a perennial herbaceous plant, the plant material of which is grass. The chemical composition of plant raw materials is quite diverse. There are polysaccharides, mucus, organic acids, triterpene saponins, flavonoids, mineral compounds. The herb extract is a popular hypotensive, sedative, vasodilator, diuretic, antiedematous, hemostatic, antiemetic agent. The plant raw materials of domestic production are practically not studied. Therefore, conducting a pharmacognostic study of the herb *A. dasyanthus* was relevant.

The aim of the study – to determine the component composition of hydroxycinnamic acids and flavonoids in the domestically harvested herb of *A. dasyanthus*.

Research Methods. Series of *A. dasyanthus* grass were harvested during 2020–2021 from private plots in Ukraine. The component composition of hydroxycinnamic acids and flavonoids was determined by HPLC on an Agilent Technologies 1200 liquid chromatograph.

Results and Discussion. The component composition of the herb *A. dasyanthus*, which is represented by 5 hydroxycinnamic acids and 8 flavonoids, was studied using the HPLC method. The chlorogenic acid (615.88 ± 1.68) $\mu\text{g/g}$ was dominated by quantitative content from the identified hydroxycinnamic acids and the content of neohesperidin (1885.06 ± 1.04) $\mu\text{g/g}$ and rutin (1390.15 ± 17.41) $\mu\text{g/g}$ was dominated from identified flavonoids.

Conclusions. The component composition of hydroxycinnamic acids and flavonoids of the herb *A. dasyanthus* harvested in Ukraine was studied using HPLC. It was established that the dominant component of hydroxycinnamic acids of the herb *A. dasyanthus* is chlorogenic acid (615.88 ± 1.68) $\mu\text{g/g}$ and flavonoid compounds are neohesperidin (1885.06 ± 1.04) $\mu\text{g/g}$ and rutin (1390.15 ± 17.41) $\mu\text{g/g}$. A promising direction of further research is the study of the component composition of phenolic compounds of the *A. dasyanthus* herb series harvested in different regions of Ukraine and from plants of different ages.

KEY WORDS: *Astragalus dasyanthus* Pall.; herb; hydroxycinnamic acids; flavonoids.