

Рекомендована д-м біол. наук, проф. Л.С. Фірою

УДК 54.06:547.98:582.736

## КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У ТРАВІ ДЕЯКИХ ВИДІВ ЛЯДВЕНЦЮ

© С.В. Ковальов

Національний фармацевтичний університет, Харків

**Резюме:** у статті наведено результати визначення кількісного вмісту у траві лядвенцю українського та л. польового – гідроксикоричних кислот ( $1,65 \pm 0,01\%$ ), ( $2,02 \pm 0,03\%$ ), флавоноїдів ( $1,82 \pm 0,03\%$ ), ( $1,40 \pm 0,02\%$ ), фенольних сполук ( $3,33 \pm 0,04\%$ ), ( $3,51 \pm 0,03\%$ ).

**Ключові слова:** лядвенець український, л. польовий, кількісний вміст, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, фенольні сполуки.

**Вступ.** Рід лядвенець (*Lotus L.*) родини бобових (*Fabaceae*) нараховує близько 80 видів, які поширені в основному в Середземномор'ї, Англії, Північній та Південній Америці, Австралії, Західній Європі. На території СНД зустрічається 12 видів, з них в Україні – 10 [1, 2, 3].

Довгий час рослини роду лядвенець не були спеціальним об'єктом всебічного хімічного дослідження, що не давало можливості їх практичного використання. Інтерес до вивчення хімічного складу рослин цього роду був викликаний їх кормовою цінністю. Лядвенець дуже багатий на білкові речовини, що зумовлює його застосування в народному господарстві як харчової рослини [4].

У рослинах роду лядвенець виявлені амінокислоти, каротиноїди, вітаміни С, К, В, Вс, мікроелементи Cu, Zn, Mn, Mg, Mo. Але основні біологічно активні речовини, які викликають зацікавленість та заслуговують уваги – це фенольні сполуки, вивчені недостатньо.

Найбільш вивчений в цьому напрямку лядвенець рогатий – *Lotus corniculatus L.* У надземній частині виявлені флавоноїди – 7-рамнозид і 3,7-дирамнозид кверцетину, 3-глюкозидо-7-рамнозид кемпферолу, кемпферол, кверцетин, ізорамнетин, гіперозид, кверцетрин. У листі – кемпферол, кверцетин, гідроксикоричні кислоти – п-кумарова, ферулова; антоціани – дельфінідин, ціанідин. У квітках є флавоноїди – корнікулатин, кверцетагенін, 7-метиловий ефір кверцетагеніну, 3-галактозид гопіпетину, 3-галактозид-7-метилгопіпетину, 5-дезгідроксикверцетин, 3-метилкверцетин, 3-метил-5-дезгідроксикверцетин, 8-гідроксикверцетин, 8-О-метилкверцетин, 8-О-метил-3-метилкверцетин, 5-дезгідроксикемпферол, 8-О-метил-3-метилкемпферол, 8-О-метилкемпферол [5, 6].

Ступінь вивчення окремих видів лядвенцю різний. Фітохімічні дослідження були направлені

в основному на вивчення окремих класів природних сполук і тільки деякі індивідуальні речовини виділені та встановлена їх хімічна будова. Так, із лядвенцю кавказького виділені ферулова та синапова кислоти; із лядвенцю птахонного – кверцетин, кемпферол, ціанідин; із лядвенцю тонкого – 3-О-глюкозид і 3-О-рамнозид кемпферолу; із лядвенцю Крилова – п-кумарова, синапова, ферулова кислоти, кемпферол, кверцетин, ціанідин. Із коренів лядвенцю грецького виділені 8-( $\gamma, \gamma$ -диметилаліл)-1-метоксикуместрол, еухрестофлавонол А, ізофлавоноїди – лупінальбіни А-С [7-9].

У фармакологічному відношенні рослини роду лядвенець практично не вивчені. Так, трава лядвенцю рогатого в Україні і на Кавказі застосовується при застудних захворюваннях. Зовнішньо вживають як ранозагоювальний, пом'якшувальний і болетамувальний засіб. Листя застосовують як в'яжучий, а квітки – як заспокійливий і загальнозміцнюючий засіб [10].

За останніми даними, *Lotus corniculatus* застосовується як спазмолітичний засіб, а *L. uliginosus* в експерименті *in vitro* виявляє протипухлинну активність відносно саркоми-45 [11].

Із трави лядвенцю рогатого нами одержані сухий і ліпофільний екстракти, які мають виражену протизапальну, діуретичну та ранозагоювальну дію [12].

Наведений огляд сучасного стану досліджень видів роду лядвенець свідчить про перспективність їх подальшого вивчення.

Метою даної роботи є визначення кількісного вмісту фенольних сполук в траві лядвенцю українського та л. польового.

**Методи дослідження.** Об'єктом дослідження була трава лядвенцю українського та л. польового, заготовлена у фазу цвітіння в Івано-Франківській області у 2007-2008 роках.

Кількісний вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, фенольних сполук проводився спектрофотометричним методом. Оптичну густину вимірювали у кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі СФ-46 за відповідної довжини хвилі [13].

**Гідроксикоричні кислоти.** Вміст гідроксикоричних кислот визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на кислоту хлорогенову. Вимірювання проводили при довжині хвилі 327 нм.

2,5 г (точна наважка) подрібненої трави лядвенцю, яка проходить крізь сито з діаметром отворів 1 мм, вміщували в колбу місткістю 200 мл, додавали 60 мл води. Колбу з'єднували зі зворотним холодильником і нагрівали на киплячому водяному огрівнику протягом 15 хвилин. Екстрагування проводили двічі. Екстракти з'єднували і після охолодження фільтрували через паперовий фільтр на воронці Бюхнера. Фільтрат кількісно переносили в мірну колбу місткістю 200 мл і доводили об'єм до мітки (розчин А).

У мірну колбу місткістю 25 мл вносили 1 мл розчину А і розчиняли у 20 % спирті, доводили об'єм до мітки тим самим розчинником. Оптичну густину одержаного розчину вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 327 нм. Як розчин порівняння використовували 20 % спирт [16].

Вміст суми гідроксикоричних кислот у відсотках, у перерахунку на кислоту хлорогенову, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 200 \cdot 25 \cdot 100}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m \cdot 1 \cdot (100 - W)},$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

m – наважка сировини, у грамах;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$  – питомий показник поглинання кислоти хлорогенової, 531.

W – втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

**Флавоноїди.** Вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на рутин.

1,0 г (точна наважка) подрібненої трави лядвенцю, яка проходить крізь сито з діаметром отворів 1 мм, поміщали в колбу зі шліфом місткістю 150 мл, додавали 30 мл 70 % спирту. Колбу зважували (з похибкою  $\pm 0,01$ ), приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на киплячому водяному огрівнику протягом двох годин, періодично струшуючи для змивання часток сировини зі стінок. Після охолодження колбу знову закривали пробкою, зважували, збиток у масі доповнювали 70% спиртом і настоювали при періодичному збовтуванні протягом 1 години. Фільтрували через паперовий фільтр (розчин А).

У мірну колбу місткістю 25 мл вміщували 1 мл розчину А, додавали 2 мл розчину алюмінію хлориду в 95 % спирті і доводили об'єм розчину 95 % спиртом до мітки (випробуваний розчин). Через 40 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 415 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин для порівняння використовували розчин, який містив 1 мл розчину А, 2 краплі розведеної оцтової кислоти і доведений 95% спиртом до мітки в мірній колбі місткістю 25 мл.

Паралельно вимірювали оптичну густину розчину ДСЗ рутину, приготовленого аналогічно досліджуваному розчину.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин і абсолютно суху сировину, у відсотках, розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 100 \cdot (100 - W)},$$

де А – оптична густина випробуваного розчину;  
 $A_0$  – оптична густина комплексу розчину ДСЗ ДФУ рутину з алюмінію хлоридом;

m – наважка сировини, у грамах;

$m_0$  – наважка ДСЗ ДФУ рутину, у грамах;

W – втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

**Примітка.** Приготування розчину Державного стандартного зразка (ДСЗ) рутину: близько 0,05 г (точна наважка) ДСЗ рутину, попередньо висушеного при температурі 130 – 135°C на протязі 3 год, розчиняють у 85 мл 95% спирту в мірній колбі місткістю 100 мл при нагріванні на водяній бані, охолоджують, кількісно переносять в мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину тим самим спиртом до мітки і переміщують.

**Фенольні сполуки.** Вміст суми фенольних сполук визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту.

У мірну колбу місткістю 100 мл вміщували 1 мл розчину А, отриманого для визначення флавоноїдів, розчиняли в 70 % спирті і доводили об'єм розчину 70 % спиртом до мітки (випробуваний розчин). Через 15 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 270 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин для порівняння використовували 70 % спирт.

Вміст суми фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту і абсолютно суху сировину, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 50 \cdot (100 - W)},$$

де А – оптична густина випробуваного розчину;  
 $A_0$  – оптична густина комплексу розчину ДСЗ ДФУ галової кислоти;

$m$  – наважка сировини, у грамах;  
 $m_0$  – наважка ДСЗ ДФУ галової кислоти, у грамах;  
 $W$  – втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

**Результати й обговорення.** У результаті проведених досліджень в траві досліджуваних видів лядвенцю визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та фенольних сполук (табл. 1).

**Таблиця 1.** Метрологічні характеристики визначення кількісного вмісту фенольних сполук в траві досліджуваних видів лядвенцю

Досліджуваний вид	$x_i$ , %	Статистичні дані
Гідроксикоричні кислоти		
Лядвенець український	1,6370	$\bar{x} = 1,65$
	1,6480	$S = 0,0120$
	1,6703	$S_{\bar{x}} = 0,0054$
	1,6510	$\Delta\bar{x} = \pm 0,01$
	1,6530	$\bar{\varepsilon} = 0,91\%$
Лядвенець польовий	2,0549	$\bar{x} = 2,02$
	1,9791	$S = 0,0298$
	2,0439	$S_{\bar{x}} = 0,0133$
	2,0254	$\Delta\bar{x} = \pm 0,04$
	2,0100	$\bar{\varepsilon} = 1,83\%$
Флавоноїди		
Лядвенець український	1,8446	$\bar{x} = 1,82$
	1,8241	$S = 0,0245$
	1,8336	$S_{\bar{x}} = 0,0109$
	1,7859	$\Delta\bar{x} = \pm 0,03$
	1,7986	$\bar{\varepsilon} = 1,67\%$
Лядвенець польовий	1,4175	$\bar{x} = 1,40$
	1,3736	$S = 0,0208$
	1,4274	$S_{\bar{x}} = 0,0093$
	1,3956	$\Delta\bar{x} = \pm 0,03$
	1,4001	$\bar{\varepsilon} = 1,85\%$
Фенольні сполуки		
Лядвенець український	3,3736	$\bar{x} = 3,33$
	3,2967	$S = 0,0342$
	3,3406	$S_{\bar{x}} = 0,0153$
	3,3599	$\Delta\bar{x} = \pm 0,04$
	3,3021	$\bar{\varepsilon} = 1,28\%$
Лядвенець польовий	3,5054	$\bar{x} = 3,51$
	3,4835	$S = 0,0237$
	3,5274	$S_{\bar{x}} = 0,0106$
	3,5384	$\Delta\bar{x} = \pm 0,03$
	3,4891	$\bar{\varepsilon} = 0,84\%$

Як видно з даних, наведених в таблиці 1, сумарний вміст фенольних сполук в траві лядвенцю українського складає  $(3,33 \pm 0,03)\%$ , гідроксикоричних кислот –  $(1,65 \pm 0,01)\%$ , флавоноїдів –  $(1,82 \pm 0,03)\%$ ; в траві лядвенцю польового сумарний вміст фенольних сполук

складає  $(3,51 \pm 0,03)\%$ , гідроксикоричних кислот –  $(2,02 \pm 0,04)\%$ , флавоноїдів –  $(1,40 \pm 0,03)\%$ .

Наведені дані свідчать, що трава лядвенцю українського та лядвенцю польового є перспективною для подальшого вивчення і використан-

ня її як лікарської сировини для створення лікарських засобів.

**Висновки.** У траві лядвенцю українського та л. польового визначено кількісний вміст гідрок-

сикоричних кислот ((1,65±0,01) та (2,02±0,04)% відповідно), флавоноїдів (1,82±0,03) та ((1,40±0,03)% відповідно) та фенольних сполук ((3,33±0,03) та (3,51±0,03)% відповідно).

### Література

1. Вульф В.В. Малеева О.В. Мировые ресурсы полезных растений. – Л.: Наука, 1969. – 563 с.
2. Определитель высших растений Украины / Под ред. Ю.Н. Прокудина. – К.: Наукова думка, 1987. – 548 с.
3. Яковлев Г.П. Бобовые земного шара. – Л.: Наука, 1991. – 141 с.
4. Алтымышев А. Природные целебные средства. – Бишкек: Кыргызстан, 1991. – 350 с.
5. Король В.В., Ковальов В.М. Дослідження флавоноїдів у траві *Lotus corniculatus* L. // Фізіологічно активні речовини. – 1999. – № 1 (27). – С. 99-101.
6. Reynaud J., Lussignol M. The Flavonoids of *Lotus corniculatus* // *Lotus Newsletter*. – 2005. – V. 35 (1). – P. 75-82.
7. Harney P.M., Grant W.F. Chromatographic study of the phenolics of species of *Lotus* closely related to *L. corniculatus* and their taxonomic significance // *Amer. J. Bot.* – 1964. – V. 51. – P. 621-627.
8. Zeinab F. Mahmoud, Masouda E. Amer, Maged S. Abdel Kader, Nabil A. Abdel-Salam. A coumestan from *Lotus*

*creticus* // *Phytochemistry*. – 1990. – V. 29 (1). – P. 355-356.

9. Bell E.A., Lackey J.A., Polhill R.M. Systematic significance of canavanine in the Papilionoideae (Faboideae) // *Biochem. Syst. Ecol.* – 1978. – V. 6(3). – P. 201-214.

10. Универсальная энциклопедия лекарственных растений / Сост. И. Путьрский, В. Прохоров. – Мн.: Книжный дом. – М.: Махаон, 2000. – 656 с.

11. Патент 46939 А, Україна, А61К35/78. Спосіб одержання ліпофільного екстракту лядвенцю рогатого, що має ранозагоювальну дію / В.В. Король, С.В. Ковальов, В.М. Ковальов, Л.М. Вороніна, О.І. Набока – Заявл. 21.05.99; Опубл. 17.06.02.

12. Слабостицкая А.Т., Бондаренко А.С., Крымская С.С. Противоопухолевые свойства препаратов из различных видов растений // 1-я респ. конф. по мед. ботанике. – К., 1984. – С. 160.

13. Ковальов С.В., Ерьоменко Р.Ф., Малоштан Л.М. Кількісне визначення фенольних сполук у траві люцерни посівної // *Фармаком.* – 2008. – № 4. – С. 35-38.

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ТРАВЕ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЛЯДВЕНЦА

**С.В. Ковалев**

*Национальный фармацевтический университет, Харьков*

**Резюме:** в статье приведены результаты определения количественного содержания в траве лядвенца украинского и л. полевого – оксикоричных кислот ((1,65±0,01)%; (2,02±0,03)%), флавоноидов ((1,82±0,03)%; (1,40±0,02)%), фенольных соединений ((3,33±0,04)%; (3,50±0,03)%).

**Ключевые слова:** лядвенец украинский, л. полевой, количественное содержание, оксикоричные кислоты, флавоноиды, фенольные соединения.

## QUANTITATIVE DETERMINATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN HERB OF LOTUS SPP.

**S.V. Kovalyov**

*National Pharmaceutical University, Kharkiv*

**Summary:** the results of determination of hydroxycinnamic acid, flavonoids and polyphenolic compounds in the herb of *Lotus* spp. are represented in the article. The content of hydroxycinnamic acids in herb of *Lotus ucrainicus* and *Lotus arvensis* is (1,65±0,01)%; (2,02±0,03) %, flavonoids – (1,82±0,03)%; (1,40±0,02)%, the content of phenolic compounds is (3,33±0,04)%; (3,51±0,03)%.

**Key words:** *Lotus ucrainicus*, *Lotus arvensis*, quantitative determination, hydroxycinnamic acids, flavonoids, phenolic compounds.