

УДК 582.736.3:615.322:543.42

ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ ФЛАВОНОЇДІВ В КОМПЛЕКСІ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК З ТРАВИ ДЕСМОДІУМУ КАНАДСЬКОГО СОРТУ PERSEI

© Д. О. Мезенцев, В. С. Кисличенко, Н. С. Бурда, Я. В. Дьяконова

Десмодіум канадський – рослина, яка культивується в Україні, зокрема в Полтавській області вирощують сорт Persei. Оскільки поширеність захворювань спричинених вірусом герпесу на даний час досить велика і спостерігається тенденція росту чисельності хворих, то є актуальним пошук нових перспективних джерел з вираженою противірусною активністю.

Відомо, що десмодіум канадський проявляє противірусну дію. Тому нами був попередньо одержаний комплекс поліфенольних сполук з трави десмодіуму канадського сорту Persei.

Метою нашої роботи було визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів в комплексі поліфенольних сполук з трави десмодіуму канадського сорту Persei.

Методи дослідження. Аналіз кількісного вмісту флавоноїдів в досліджуваному комплексі поліфенольних сполук проводився методом спектрофотометрії.

Результати дослідження. В результаті проведеного дослідження було визначено кількісний вміст суми флавоноїдів в перерахунку на рутин та суху речовину в комплексі поліфенольних сполук, одержаного з трави десмодіуму канадського сорту Persei. Вміст флавоноїдів в досліджуваному комплексі повинен бути не менше 30 %.

Висновки. Результати дослідження використанні при розробці методів контролю якості комплексу поліфенольних сполук з трави десмодіуму канадського сорту Persei

Ключові слова: десмодіум канадський, сорт Persei, трава, комплекс поліфенольних сполук, флавоноїди, спектрофотометрія

Desmodium canadense herb is cultivated in Ukraine, particularly Persei genus is grown in Poltava region. Since nowadays the prevalence of diseases caused by herpes virus is large enough, and the tendency of growth of the number of patients is observed, the search of prospective sources with a strong antiviral activity is relevant.

It is known that Desmodium canadense has an antiviral activity. Therefore, the complex of polyphenol compounds from Persei genus of Desmodium canadense herb was obtained previously.

The aim of our research was quantitative determination of the sum of flavonoids in polyphenol compounds complex in Persei genus of Desmodium canadense herb.

Methods. Spectroscopy method was used for quantitative analysis of flavonoids in the studied polyphenol compounds complex.

Results. As a result of research, quantitative content of the sum of flavonoids calculated as rutin and dry matter in polyphenol compounds complex, obtained from Persei genus of Desmodium canadense herb, was determined. The content of flavonoids in the studied complex should be more than 30 %.

Conclusion. The results of research were used for development of quality control methods of polyphenol compounds complex from Persei genus of Desmodium canadense herb

Keywords: Desmodium canadense, Persei genus, herb, polyphenol compounds complex, flavonoids, spectroscopy

1. Вступ

Десмодіум канадський (*Desmodium canadense* (L.) DC.) – рослина, яка росте в центральній частині Канади та північно-східній частині США [1]. Культивують в багатьох країнах світу, зокрема в Україні. У Полтавській області вирощують десмодіум канадський сорту Persei.

За рахунок фенольних сполук десмодіум проявляє противірусну, антимікробну, анальгезуючу, протизапальну та нефропротекторну активність [1, 2].

Крім того, науковці з Китаю та Тайваню дослідили 10 видів десмодіуму і встановили виражену антиоксидантну активність даних рослин [3].

Водні та метанольні екстракти з надземної частини *Desmodium triflorum* (L.) DC. проявляють антибактеріальну дію по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* та *Escheria coli* [4].

2. Постановка проблеми у загальному вигляді, актуальність теми та її зв'язок з важливими науковими чи практичними питаннями

За даними ВООЗ у 2015 році інфікованість вірусом простого герпесу складала більше 3,7 млрд. людей віком до 50 років [5]. Такі дані спонукають науковців до пошуку нових ефективних противірусних засобів.

Однією з відомих рослин, яка виявляє противірусну активність є десмодіум канадський. Зазначену дію десмодіуму канадського пов'язують зі значним вмістом сполук фенольної природи, а саме флавоноїдів [6].

Нами був попередньо одержаний комплекс поліфенольних сполук з трави десмодіуму канадського сорту Persei. Тому актуальним є визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів в даному комплексі.

3. Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких розпочато вирішення даної проблеми і на які спирається автор

Закордонними науковцями був вивчений якісний склад та встановлений кількісний вміст флавоноїдів у траві десмодіуму канадського у різні фази вегетації методом ВЕРХ. Було виявлено 15 сполук флавоноїдної природи, а саме апігенін, апігенін-7-О-глікозид, лютеолін, рутин, 2-віценін, вітексин, ізовітексин, вітексина рамнозид, орієнтин, гомоорієнтин, кверцитрин, кверцетин, гіперозид, астрагалін та кемпферол. Найбільший вміст флавоноїдів спостерігався під час цвітіння у другому вегетаційному році (2,45 %). За вмістом серед флавоноїдів переважали орієнтин та гомоорієнтин (38,9–45,9 %). Вміст інших флавоноїдів складав: 2-віценін – 12,8–16,3 %, вітексин – 8,6–12,7 %, ізовітексин – 7,7–13,0 %, рутин – 6,9–11,6 % [7].

В надземній частині *Desmodium adscendens* (Sw.) DC. було виявлено С-глікозиди флавоноїдів, а саме вітексин та ізовітексин [8]. Крім того, в цьому виді десмодіуму встановлено, що в листі накопичується більше поліфенольних сполук, ніж в стеблах. Для одержаного етилацетатного екстракту з листя *Desmodium adscendens* (Sw.) DC. встановлено виражену антиоксидантну активність [9].

Японські вчені зі стебел та листя *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. виділили 7 нових флавоноїдів, для яких встановили антибактеріальну активність [10, 11]. Також два нових флавоноїди було виділено з коренів вищезазначеної рослини. Крім того, для виділених сполук встановлено протигрибкову активність по відношенню до *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. та *Trichophyton* sp. [12].

В Україні 80-х роках ХХ століття проводили вивчення хімічного складу трави десмодіума канадського [13, 14].

4. Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, якій присвячена стаття

Для стандартизації одержаного комплексу поліфенольних сполук доцільним є проведення визначення кількісного вмісту основної групи біологічно активних речовин.

5. Формулювання цілей статті

Метою нашої роботи було визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у комплексі поліфенольних сполук, одержаному з трави десмодіуму канадського сорту *Persei*.

6. Виклад основного матеріалу дослідження (методів і об'єктів) з обґрунтуванням отриманих результатів

Об'єктом дослідження був комплекс поліфенольний сполук з трави десмодіуму канадського сорту *Persei*.

Попередніми дослідженнями методом ПХ та ТШХ нами був вивчений якісний склад трави десмодіуму канадського сорту *Persei* та одержаного комплексу, який представлений С-глікозидами флавоноїдів. Було достовірно встановлено наявність та ідентифіковано сапонаретин та гомоорієнтин [15].

Кількісний вміст флавоноїдів в комплексі поліфенольних сполук з трави десмодіуму канадського сорту *Persei* визначали за методикою, розробленою саме для цього об'єкта дослідження.

0,10 г (точна наважка) досліджуваного комплексу поміщали до мірної колби місткістю 50 мл, розчиняли в 30 мл 70 % етанолу при нагріванні на теплій водяній бані, охолоджували до кімнатної температури, доводили об'єм розчину 70% етанолом до мітки та перемішували (розчин А).

1 мл розчину А поміщали до мірної колби місткістю 50 мл, додавали 1 мл 4 % розчину алюмінію хлориду, поміщали на 3 хв на водяну баню при температурі 75–85 °С, охолоджували до кімнатної температури, додавали 5 мл буферного розчину з рН 4,2, доводили об'єм розчину 70 % етанолом до мітки та перемішували (розчин Б).

Вимірювали оптичну густину розчину Б на спектрофотометрі при довжині хвилі 407 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи в якості розчину порівняння розчин, який складався з 1 мл розчину А, 5 мл буферного розчину з рН 4,2, який поміщали в мірну колбу місткістю 50 мл та доведений 70 % етанолом до мітки.

Паралельно вимірювали оптичну густину розчину стандартного зразку (СЗ) рутину, приготованого наступним чином: 1,5 мл СЗ рутину поміщали в мірну колбу місткістю 50 мл, додавали 8 мл 4 % розчину алюмінію хлориду, поміщали на 3 хв на водяну баню при температурі 75–85 °С, охолоджували до кімнатної температури, додавали 5 мл буферного розчину з рН 3,3, доводили об'єм розчину 70 % етанолом до мітки та перемішували.

В якості розчину порівняння використовували розчин, який складався з 1,5 мл розчину СЗ рутину, 5 мл буферного розчину з рН 3,3, який поміщали в мірну колбу місткістю 50 мл та доведеного 70 % етанолом до мітки.

Вміст суми флавоноїдів (X, %) в перерахунку на рутин та суху речовину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100 \cdot m_0 \cdot 1.5 \cdot 0.530}{A_0 \cdot m_1 \cdot 1 \cdot (100 - W) \cdot 50 \cdot 50} = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 7950}{A_0 \cdot m_1 \cdot (100 - W)}$$

де A_1 – оптична густина досліджуваного розчину Б;

A_0 – оптична густина розчину СЗ рутину;

m_0 – маса наважки СЗ рутину, г;

m_1 – маса наважки субстанції, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %;

0,530 – відношення питомого показника поглинання рутину при довжині хвилі 407 нм до питомого показника поглинання сапонаретину при тій же хвилі.

Приготування розчину рутину СЗ. 0,05 г (точна наважка) СЗ рутину попередньо висушеного при температурі від 130 до 135 °С протягом 3 годин, поміщали в мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняли в 30 мл 96 % етанолу при нагріванні на теплій водяній бані, охолоджували до кімнатної температури, доводили об'єм розчину тим же розчинником до мітки та перемішували.

Приготування буферного розчину з рН 4,2.

10 мл 1 М розчину натрію гідроксиду поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, додавали 39,6 мл 1 М, доводили об'єм розчину водою до мітки та перемішували.

Приготування буферного розчину з рН 3,3.

4 мл 1 М розчину натрію гідроксиду поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, доводили об'єм розчину 1 М розчином кислоти оцтової до мітки та перемішували.

Приготування 1 М розчину кислоти оцтової.

58 мл кислоти оцтової льодяної поміщали в мірну колбу місткістю 1000 мл, доводили об'єм розчину водою до мітки та перемішували.

В результаті проведеного експерименту було встановлено, що вміст суми флавоноїдів в комплексі поліфенольних сполук в перерахунку на рутин та суху речовину становить 32,48±1,15 %.

7. Висновки

В статті приведені результати визначення кількісного вмісту основного класу діючих речовин, а саме флавоноїдів, в комплексі поліфенольних сполук з трави десмодіуму канадського сорту *Persei*.

1. Методом спектрофотометрії в одержаному комплексі поліфенольних сполук з трави десмодіуму канадського сорту *Persei* встановлено кількісний вміст суми флавоноїдів.

2. Кількісний вміст флавоноїдів в перерахунку на рутин та суху речовину в досліджуваному комплексі повинно бути не менше 30 %

3. Одержані результати використані при розробці методів контролю якості на одержаний комплекс поліфенольних сполук з трави десмодіуму канадського сорту *Persei*.

Література

1. Taylor, W. G. Soyasaponins and Related Glycosides of *Desmodium canadense* and *Desmodium illinoense* [Text] / W. G. Taylor, D. H. Sutherland, K. W. Richards // *The Open Natural Products Journal*. – 2009. – Vol. 2, Issue 1. – P. 59–67. doi: 10.2174/1874848100902010059

2. Borchardt, J. R. Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin [Text] / J. R. Borchardt, D. L. Wyse, C. C. Sheaffer et. al. // *Journal of Medicinal Plants Research*. – 2008. – Vol. 2, Issue 5. – P. 098–110.

3. Tsai, J.-C. Antioxidant activities of phenolic components from various plants of *Desmodium* species [Text] / J.-C. Tsai // *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. – 2011. – Vol. 5, Issue 4. – P. 468–476. doi: 10.5897/ajpp11.059

4. Sharma, R. Efficacy of aqueous and methanolic extracts of plant *desmodium triflorum* for potential antibacterial activity [Text] / R. Sharma, B. Parashar, A. Kabra // *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. – 2013. – Vol. 4, Issue 5. – P. 1975–1981. – Available at: <http://ijpsr.com/bft-article/efficacy-of-aqueous-and-methanolic-extracts-of-plant-desmodium-triflorum-for-potential-antibacterial-activity/?view=fulltext>

5. Media centre [Electronic resource]. – WHO. – Available at: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/herpes/en/>

6. Пуоджюнене, Г. Количественная оценка содержания флавоноидов в вегетативных и репродуктивных органах десмодіума канадского [Текст] / Г. Пуоджюнене,

В. Янулис, Л. Иванаускас и др. // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2009. – № 6. – С. 18–21.

7. Puodziuniene, G. Quantitative hplc estimation of flavonoids in showy tick trefoil (*Desmodium canadense*) herbs [Text] / G. Puodziuniene, V. Kairyte, V. Janulis, A. Razukas, Z. Barsteigiene, O. Ragazinskiene // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2011. – Vol. 45, Issue 2. – P. 88–90. doi: 10.1007/s11094-011-0566-2

8. Pothier, J. Planar chromatographic study of flavonoids and soyasaponins for validation of fingerprints of *Desmodium adscendens* of different origin [Text] / J. Pothier, J. Ragot, N. Galand // *Journal of Planar Chromatography – Modern TLC*. – 2006. – Vol. 19, Issue 109. – P. 191–194. doi: 10.1556/jpc.19.2006.3.3

9. Koffi, M. K. Quantification of total phenols and flavonoids of *Desmodium adscendens* (Sw.) DC. (Papilionaceae) and projection of their antioxidant capacity [Text] / K. K. Marcel, M.-B. J. Akhanovna, B. Yves-Alain // *Journal of Applied Biosciences*. – 2012. – Vol. 49. – P. 3355–3362.

10. Sasaki, H. Prenylated flavonoids from *Desmodium caudatum* and evaluation of their anti-MRSA activity [Text] / H. Sasaki, Y. Kashiwada, H. Shibata, Y. Takaishi // *Phytochemistry*. – 2012. – Vol. 82. – P. 136–142. doi: 10.1016/j.phytochem.2012.06.007

11. Sasaki, H. Prenylated flavonoids from the stems and leaves of *Desmodium caudatum* and evaluation of their inhibitory activity against the film-forming growth of *Zygosaccharomyces rouxii* F51 [Text] / H. Sasaki, H. Shibata, K. Imabayashi, Y. Takaishi, Y. Kashiwada // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2014. – Vol. 62, Issue 27. – P. 6345–6353. doi: 10.1021/jf5020439

12. Sasaki, H. Prenylated flavonoids from the roots of *Desmodium caudatum* and evaluation of their antifungal activity [Text] / H. Sasaki, Y. Kashiwada, H. Shibata, Y. Takaishi // *Planta Medica*. – 2012. – Vol. 78, Issue 17. – P. 1851–1856. doi: 10.1055/s-0032-1315391

13. Чернобровая, Н. В. Химическое изучение десмодіума канадського [Текст]: тез. докл. / Н. В. Чернобровая, В. С. Батюк, Н. Ф. Комиссаренко. – Запорожье, 1984. – С. 177–178.

14. Чернобровая, Н. В. Хроматоспектрофотометрическое определение С-гликозидов десмодіума канадского [Текст]: тез. докл. Респ. науч. конф. / Н. В. Чернобровая, Л. Я. Сиренко // *Оптимиз. лекарств. обеспеч. и пути повыш. эффектив. фармац. науки*. – Харьков, 1986. – С. 238–239.

15. Мезенцев, Д. О. Исследование качественного флавоноидного состава и выделение полифенольной суммы из травы десмодіума канадского сорта Персей (*Persei*) [Текст]: II науч.-практ. Интернет-конф. / Д. О. Мезенцев // *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*. – Х.: НФаУ, 2016. – С. 171–172.

References

1. Taylor, W. G., Sutherland, D. H., Richards, K. W. (2009). Soyasaponins and Related Glycosides of *Desmodium canadense* and *Desmodium illinoense*. *The Open Natural Products Journal*, 2 (1), 59–67. doi: 10.2174/1874848100902010059

2. Borchardt, J. R., Wyse, D. L., Sheaffer, C. C. et. al. (2008). Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2 (5), 098–110.

3. Tsai, J.-C. (2011). Antioxidant activities of phenolic components from various plants of *Desmodium* species. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5 (4), 468–476. doi: 10.5897/ajpp11.059

4. Sharma, R., Parashar, B., Kabra, A. (2013). Efficacy of aqueous and methanolic extracts of plant *desmodium triflorum* for potential antibacterial activity. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4 (5), 1975–1981.

Available at: <http://ijpsr.com/bft-article/efficacy-of-aqueous-and-methanolic-extracts-of-plant-desmodium-triflorum-for-potential-antibacterial-activity/?view=fulltext>

5. Media centre. WHO. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/herpes/en/>

6. Puodzhunene, G., Janulis, V., Ivanauskas, L. et. al. (2009). Kolichestvennaja ocenka sodержaniya flavonoidov v vegetativnyh i reproduktivnyh organah desmodiuma kanadskogo. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal*, 6, 18–21.

7. Puodziuniene, G., Kairyte, V., Janulis, V., Razukas, A., Barsteigiene, Z., Ragazinskiene, O. (2011). Quantitative hplc estimation of flavonoids in showy tick trefoil (*Desmodium canadense*) herbs. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 45 (2), 88–90. doi: 10.1007/s11094-011-0566-2

8. Pothier, J., Ragot, J., Galand, N. (2006). Planar chromatographic study of flavonoids and soyasaponins for validation of fingerprints of *Desmodium adscendens* of different origin. *Journal of Planar Chromatography – Modern TLC*, 19 (109), 191–194. doi: 10.1556/jpc.19.2006.3.3

9. Koffi, M. K., Akhanovna, M.-B. J., Yves-Alain, B. (2012). Quantification of total phenols and flavonoids of *Desmodium adscendens* (Sw.) DC. (Papilionaceae) and projection of their antioxidant capacity. *Journal of Applied Biosciences*, 49, 3355–3362.

10. Sasaki, H., Kashiwada, Y., Shibata, H., Takaiishi, Y. (2012). Prenylated flavonoids from *Desmodium caudatum* and

evaluation of their anti-MRSA activity. *Phytochemistry*, 82, 136–142. doi: 10.1016/j.phytochem.2012.06.007

11. Sasaki, H., Shibata, H., Imabayashi, K., Takaiishi, Y., Kashiwada, Y. (2014). Prenylated Flavonoids from the Stems and Leaves of *Desmodium caudatum* and Evaluation of Their Inhibitory Activity against the Film-Forming Growth of *Zygosaccharomyces rouxii* F51. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (27), 6345–6353. doi: 10.1021/jf5020439

12. Sasaki, H., Kashiwada, Y., Shibata, H., Takaiishi, Y. (2012). Prenylated Flavonoids from the Roots of *Desmodium caudatum* and Evaluation of Their Antifungal Activity. *Planta Medica*, 78 (17), 1851–1856. doi: 10.1055/s-0032-1315391

13. Chernobrovaja, N. V., Batjuk, V. S., Komissarenko, N. F. (1984). Himicheskoe izuchenie desmodiuma kanadskogo. *Zaporozh'e*, 177–178.

14. Chernobrovaja, N. V., Sirenko, L. Ja. (1986). Hromatospektrofotometricheskoe opredelenie S-glikozidov desmodiuma kanadskogo. *Optimiz. lekarstv. obespech. i puti povysh. jeffektiv. farmac. nauki. Kharkov*, 238–239.

15. Mezenцев, D. O. (2016). Issledovanie kachestvennogo flavonoidnogo sostava i vydelenie polifenol'noj summy iz travy desmodiuma kanadskogo sorta Persej (*Persei*). *Teoretichni ta praktichni aspekti doslidzhennja likars'kih roslin. Kharkiv: NFaU*, 171–172.

Дата надходження рукопису 18.05.2016

Мезенцев Денис Олегович, аспірант, кафедра хімії природних сполук, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002

E-mail: cnc@nuph.edu.ua

Кисличенко Вікторія Сергіївна, доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри, кафедра хімії природних сполук, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002

Бурда Надія Євгенівна, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра хімії природних сполук, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002

E-mail: nadegdaburda@ukr.net

Дьяконова Яна Володимирівна, хабелітований доктор, кафедра фізичної хімії, Варшавський медичний університет, вул. Żwirki i Wigury, 61, м. Варшава, Польща, 02-091