

© Коллектив авторов, 2011

Г. Пуоджюнене¹, В. Кайрите², В. Янулис¹, А. Ражукас², З. Барстейгене¹,
О. Рагажинскене³

ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ ДЕСМОДИУМА КАНАДСКОГО МЕТОДОМ ВЭЖХ

¹ Каунасский медицинский университет, Каунас, Литва;

² Вокейский филиал Литовского института земледелия, Вильнюс, Литва;

³ Университет Витаутаса Великого, Каунас, Литва

Проведено многолетнее исследование качественного и количественного содержания флавоноидов в траве десмодиума канадского (*Desmodium canadense* (L.) DC., *Fabaceae*), собранной в различные фазы вегетации в отделе лекарственных растений Каунасского ботанического сада Университета Витаутаса Великого. Методом ВЭЖХ определено 15 флавоноидов агликоновой и гликозидной природы: апигенин, апигенин-7-О-гликозид, лютеолин, рутин, виценин-2, витексин, изовитексин, витексина рамнозид, ориентин, гомоориентин, кверцитрин, кверцетин, гиперозид, астрагалин и кемферол. По многолетним исследованиям наибольшее количество идентифицированных веществ в траве достигалось в фазе цветения растения: 2,45 % на 2-м году вегетации и 1,28 % на 6-м году вегетации, т.е. количество их постепенно уменьшалось в процессе вегетации растения. Среди них ориентин и гомоориентин составлял от 45,9 до 38,9 % от общего количества флавоноидов, виценин-2 — от 16,3 до 12,8 %, витексин — от 12,7 до 8,6 %, изовитексин — от 13,0 до 7,7 %, рутин — от 11,6 до 6,9 %. Оптимальным временем заготовки лекарственного сырья — травы десмодиума канадского — являются фазы цветения растения и бутонизации отрастающей после скашивания травы, а рекомендуемая долговечность плантации — до 6 лет.

Ключевые слова: десмодиум канадский, трава, флавоноиды, фазы вегетации.

В результате ранее проведенного нами в отделе лекарственных растений Каунасского ботанического сада Университета Витаутаса Великого исследования качественного и количественного содержания флавоноидов в траве десмодиума канадского, выращенной с применением метода экологического земледелия в центральном регионе Литвы и собранной в различные фазы вегетации, методом ВЭЖХ было идентифицировано 15 флавоноидов агликоновой и гликозидной природы: апигенин, апигенин-7-О-гликозид, лютеолин, рутин, виценин-2, витексин, изовитексин, витексина рамнозид, ориентин, гомоориентин, кверцитрин, кверцетин, гиперозид, астрагалин и кемферол. Заготовку лекарственного сырья — травы десмодиума канадского — было рекомендовано проводить в фазе начала цветения растения, когда накапливается наибольшее количество флавоноидов (до 1,36 %) [1]. В связи с этим представлялось интересным подробно изучить закономерность накопления флавоноидов в траве многолетнего растения десмодиума канадского в течение длительного времени ее культивирования в различные фазы вегетации и установить прогнозируемую долговечность плантации растения.

Экспериментальная часть

Собирали верхушки стеблей травы десмодиума канадского (*Desmodium canadense* (L.) DC.) 2-го –

7-го года вегетации от одних и тех же растений по мере увеличения их возраста, длиной около 40 см, в фенологические фазы вегетации: во время роста, бутонизации, цветения, в начале плодоношения, во время полного созревания плодов и во время бутонизации отрастающей после скашивания травы.

Использованные стандартные образцы, химические реактивы, экстракция, хроматографический анализ и статистическая обработка полученных данных описаны ранее [1]. 0,2 мл профильтрованного экстракта перед хроматографированием разводили 1,8 мл 70 % этилового спирта.

Результаты и их обсуждение

Хроматограмма ВЭЖХ этанольного экстракта травы десмодиума канадского 7-го года вегетации, собранной в фазе бутонизации отрастающей после скашивания травы, представлена на рис. 1.

Динамика накопления идентифицированных флавоноидов в траве десмодиума канадского в течение 2-го – 7-го года вегетации и в различные фазы вегетации представлена на рис. 2.

Проведенные исследования накопления идентифицированных флавоноидов в траве десмодиума канадского в течение 2-го – 7-го года и в различные фазы вегетации показали, что наиболее высокое количество флавоноидов в надземной части изучаемого растения

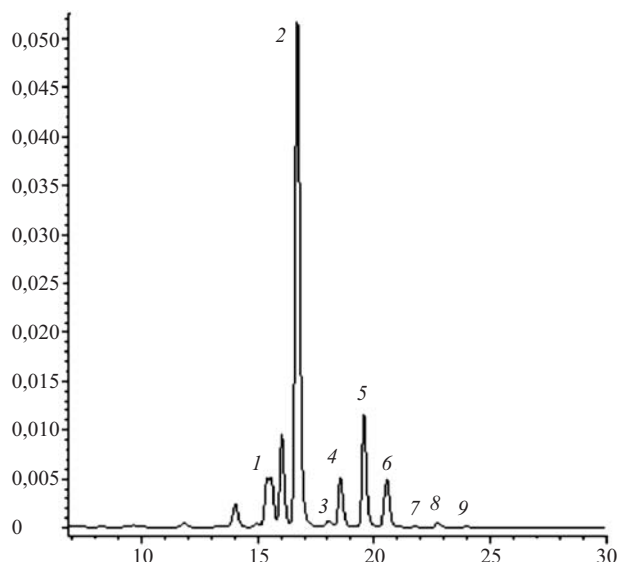


Рис. 1. ВЭЖХ этанольного экстракта травы десмодиума канадского 7-го года вегетации, собранной в фазе бутонизации отрастающей после скашивания травы и приготовленной на 70 % этиловом спирте. Пики по времени удерживания: 1 — виценин-2, 2 — ориентин и гомоориентин, 3 — витексина рамнозид, 4 — витексин, 5 — изовитексин, 6 — рутин, 7 — гиперозид, 8 — апигенин-7-О-гликозид, 9 — астрагалин.

накапливается в течение второго года вегетации и в фазе цветения достигает максимального количества, которое составляет 2,45 %. В третьем – седьмом году вегетации количество флавоноидов постепенно уменьшается. В седьмом году вегетации по сравнению со вторым годом в фазе отрастания травы количество идентифицированных флавоноидов уменьшается на 34 %, в фазе бутонизации — на 39,3 %, в фазе цвете-

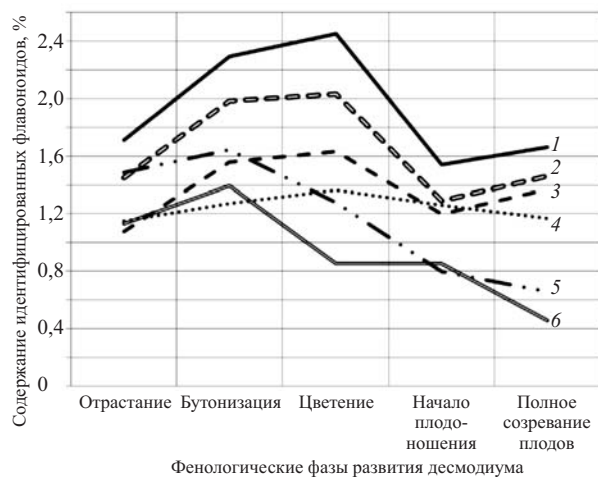


Рис. 2. Динамика накопления идентифицированных флавоноидов в траве десмодиума канадского в течение 2-го – 7-го года вегетации и в различные фазы вегетации: 1 – 2-й год; 2 – 3-й год; 3 – 4-й год; 4 – 5-й год; 5 – 6-й год; 6 – 7-й год.

ния — на 65,3 %, в фазе начала плодоношения — на 44,8 % и в фазе полного созревания плодов — на 72,3 %. Наиболее высокое количество флавоноидов в траве десмодиума канадского в течение 2-го – 5-го года вегетации накапливается в фазе цветения, а в течение 6-го – 7-го года — в фазе бутонизации.

Проведенные многолетние исследования накопления действующих веществ в траве десмодиума канадского позволяют сделать вывод о том, что оптимальным временем заготовки лекарственного сырья травы десмодиума канадского является фаза цветения растения, поскольку накапливаются наиболее высокие коли-

Результаты анализа качественного и количественного содержания флавоноидов в 70 % этанольных экстрактах травы десмодиума канадского, собранной на 2-ом и 7-ом году вегетации в фазах цветения и бутонизации отрастающей после скашивания травы

№	Название флавоноидов	Содержание флавоноидов, мкг/г			
		2-й год вегетации		7-й год вегетации	
		Фаза цветения ($\bar{X} \pm S_x$)	Фаза бутонизации отрастающей после скашивания травы ($\bar{X} \pm S_x$)	Фаза цветения ($\bar{X} \pm S_x$)	Фаза бутонизации отрастающей после скашивания травы ($\bar{X} \pm S_x$)
1	Виценин-2	3947,2 ± 204,4	3699,1 ± 143,2	1641,2 ± 94,9	1380,5 ± 107,3
2	Ориентин и гомоориентин	9336,2 ± 154,1	11193,9 ± 207,3	4837,7 ± 184,5	5716,6 ± 107,4
3	Витексина рамнозид	283,67 ± 49,66	202,51 ± 57,31	269,18 ± 77,38	43,15 ± 9,22
4	Витексин	2022,7 ± 135,9	3340,5 ± 201,9	1522,3 ± 133,1	1481,9 ± 74,7
5	Изовитексин	1756,6 ± 86,8	4099,97 ± 184,3	1177,6 ± 294,3	2180,3 ± 143,8
6	Рутин	2902,2 ± 98,1	1216,4 ± 233,9	1522,72 ± 176,8	440,96 ± 78,33
7	Гиперозид	1084,6 ± 104,1	53,67 ± 4,77	492,11 ± 80,46	36,77 ± 4,77
8	Апигенин-7-О-гликозид	2964,9 ± 212,97	121,58 ± 19,28	1038,4 ± 101,1	90,91 ± 15,83
9	Астрагалин	125,15 ± 51,2	8,69 ± 0,92	130,09 ± 53,82	50,81 ± 9,62
10	Кверцитрин	26,89 ± 4,64	15,25 ± 2,02	107,61 ± 18,28	–
11	Лютеолин	7,57 ± 1,02	9,50 ± 1,07	2,35 ± 0,59	–
12	Кверцетин	29,84 ± 7,54	7,12 ± 0,82	1,34 ± 0,32	–
13	Апигенин	2,91 ± 0,26	3,04 ± 0,31	2,53 ± 0,16	–
14	Кемферол	2,51 ± 0,21	3,37 ± 0,23	1,13 ± 0,02	–
15	Сумма флавоноидов	24492,75	23974,59	12746,25	11421,82

Замечание: $\bar{X} \pm S_x$ — средний результат ± стандартное отклонение среднего результата.

чества идентифицированных флавоноидов: от 2,45 % на 2-ом году вегетации до 1,36 % на 5-ом и до 1,28 % на 6-ом году вегетации, а рекомендуемая нами оптимальная долговечность плантации составляет 6 лет.

В течение 2-го – 7-го года и в различные фазы вегетации среди идентифицированных 15 флавоноидов в траве доминируют те же самые: ориентин и гомоориентин, виценин-2, витексин, изовитексин и рутин [1]. Так, в фазе цветения растения ориентин и гомоориентин составляет от 38,9 до 45,9 % от общего количества идентифицированных флавоноидов, виценин-2 — от 12,8 до 16,3 %, витексин — от 8,6 до 12,7 %, изовитексин — от 7,7 до 13,0 %, рутин — от 6,9 до 11,6 %.

Результаты анализа флавоноидов в экстрактах травы десмодиума канадского, собранной на втором и седьмом году вегетации в фазах цветения и бутонизации отрастающей после скашивания травы и приготовленной на 70 % этиловом спирте представлены в таблице.

Из представленных в таблице результатов анализа видно, что содержание флавоноидов в траве десмодиума канадского, собранной на 2-м и 7-м году вегетации в фазах цветения и бутонизации отрастающей после скашивания травы отличается незначительно. На 2-ом году вегетации в фазе бутонизации отрастающей после скашивания травы количество флавоноидов в траве на 2,12 % ниже, а на 7-ом году вегетации на 10,24 % ниже, чем в фазах цветения соответствующих лет.

На 2-м и 7-м году вегетации в фазе бутонизации отрастающей после скашивания травы в траве десмодиума канадского доминируют те же самые флавоноиды: ориентин и гомоориентин, виценин-2, витексин,

изовитексин и рутин. Так, в фазе бутонизации отрастающей после скашивания травы ориентин и гомоориентин составляют от 44,9 до 50,1 % от общего количества идентифицированных флавоноидов, виценин-2 — от 12,1 до 15,03 %, витексин — от 11,6 до 13,4 %, изовитексин — от 16,2 до 18,9 %, рутин — от 3,9 до 5,8 %. На седьмом году вегетации в фазе бутонизации отрастающей после скашивания травы в траве десмодиума канадского не обнаружены следующие флавоноиды: кверцитрин, лютеолин, кверцетин, апигенин и кемферол.

Поскольку ориентин и гомоориентин в траве десмодиума канадского составляют наибольшее количество (от 38,9 до 50,1 % от общего количества идентифицированных флавоноидов), то представляется возможность разработать методику стандартизации сырья по ориентину и гомоориентину.

Таким образом, в результате многолетних исследований установлено, что заготовку лекарственного сырья — травы десмодиума канадского рекомендуется проводить не только в фазе цветения растения, но и в фазе бутонизации отрастающей после скашивания травы. Оптимальная длительность использования плантации составляет 6 лет.

Работа выполнена при финансовой поддержке научного фонда КМУ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. Пуоджюнене, В. Янулис, Л. Иванаускас и др., *Хим.-фарм. журн.*, **43**(5), 33 – 36 (2009).

Поступила 18.01.10

QUANTITATIVE HPLC ESTIMATION OF FLAVONOIDS IN SHOWY TICK TREFOIL HERBS

G. Puodziuniene¹, V. Kairyte², V. Janulis¹, A. Razukas², Z. Barsteigiene¹, and O. Ragazinskiene³

¹ Kaunas University of Medicine, Kaunas, Lithuania;

² Lithuanian Institute of Agriculture (Voke Branch), Vilnius, Lithuania;

³ Vytautas Magnus University, Kaunas, Lithuania

Quantitative and qualitative analysis of flavonoids in showy tick trefoil (*Desmodium canadense* L., Fabaceae family) herbs was performed using HPLC techniques during perennial vegetation at the Department of Medicinal Herbs of the Kaunas Botanical Garden (Vytautas Magnus University). A set of 15 flavonoids of the aglicone and glycoside nature were determined, including apigenin, apigenin-7-O-glycoside, luteolin, rutin, 2-vicenin, vitexin, isovitexin, vitexin rhamnoside, orientin, homoorientin, quercitrin, quercetin, hyperoside, astragaloside, and kaempferol. The maximum amount of identified flavonoids was observed at the flowering phase: 2.45 % on the second vegetative year and 1.28 % on the sixth vegetative year, i.e., their amount constantly decreased during the plant perennial vegetation process. Among these, orientin and homoorientin varied from 45.9 to 38.9 % of the total amount of flavonoids; 2-vicenin varied from 16.3 to 12.8 %, vitexin, from 12.7 to 8.6%; isovitexin, from 13.0 to 7.7 %; and rutin, from 1.6 to 6.9%. The optimum time of collecting showy tick trefoil herbs as raw plant material is the flowering and preflowering phases of the herbs regrowing upon mowing. The recommended optimal exploitation of plantation is up to six years.

Key words: Showy tick trefoil, herbs, flavonoids, phenological phases