

Рекомендована д.х.н., професором В.В.Болотовим

УДК 54.06:547.98:582.739

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК LENS CULINARIS

С.В.Романова, С.В.Ковалев

Національний фармацевтичний університет

Проведено фітохімічне дослідження трави сочевиці харчової. Встановлено кількісний вміст гідроксикоричних кислот ($2,16\pm0,03$ %), флавоноїдів ($2,32\pm0,04$ %), поліфенольних сполук ($2,42\pm0,04$ %). Експериментальні дані вказують на перспективність використання сировини для одержання фармакологічних засобів.

Увагу дослідників фенольні сполуки привертають як біологічно активні речовини, які зумовлюють фармакологічну активність великої кількості лікарських форм на основі рослинної сировини [1].

Сочевиця харчова (*Lens culinaris* Moench.) належить до родини бобових (Fabaceae), представники якої традиційно широко використовувались як лікарські засоби в неофіційній фітотерапії. Це однорічна трав'яниста рослина заввишки 15-75 см, у якої корінь стрижневий, тонкий з великою кількістю корінців. Стебло прямостояче або ледь поперегле, галузисте, вкрите волосинками. Листки супротивні, короткочерешкові, парноперисті з 2-8 парами листочків, які закінчуються простим або галузистим вусиком. Квітки дрібні завдовжки 5-7 мм зібрани білі, рожеві або фіолетово-сині. Боби повислі, двостворчасті, 1-3 насіннєві завдовжки до 1,5 см, голі або ледь опушенні. Насіння сплюснуте або майже шароподібне, жовте, зелене, коричневе, чорне або з малюнком [3, 9].

Батьківщиною сочевиці вважається Південна Європа і Західна Азія, на теперішній час ця рослина широко культивується в Україні. Вирощують її заради насіння, яке містить велику кількість білка, а зелену масу використовують у якості корму для сільськогосподарських тварин [11, 12].

Сочевиця харчова з давнього часу використовується у народній медицині: водний настій із лушпиння бобів має протизапальну та антимікробну дію, застосовується зовнішньо при виразках і екземах. Мазь із насіння має ранозагоювальні властивості. Завдяки великому вмісту солей калію сочевиця сприяє виведенню з організму рідини і чинить розвантажувальну дію на серцево-судинну систему. Відвар бобів застосовують при діабеті, захворюваннях нирок і сечового міхура, гіпертонії. Сочевиця посилює секрецію шлункового

соку, тому страви з неї рекомендують для дієтичного харчування при гастритах зі зниженою кислотністю [3, 6].

Хімічний склад сочевиці вивчався більше стосовно білків, вуглеводів, амінокислот, вітамінів насіння, що пояснюється традиційним використанням цієї рослини як кормової і харчової культури [5, 7, 8, 10]. Згідно з літературними даними трава сочевиці харчової практично не вивчалась. Тому метою нашої роботи стало вивчення вмісту фенольних сполук у траві *Lens culinaris*.

Експериментальна частина

Об'єктом дослідження стала трава сочевиці харчової, зібрана у 2007 році в Харківській області.

Для досліджень використовували середню пробу сировини, вологість визначали за загально-прийнятою методикою [2, 4]. Для проведення якісного аналізу біологічно активних речовин готували водні та спирто-водні витяжки з сировини. Для одержання водних екстрактів біля 2 г подрібненої повітряно-сухої сировини просіювали крізь сито з діаметром отворів 2 мм, вміщували у колбу зі шліфом на 100 мл, заливали 30 мл води та нагрівали на кип'ячому водяному нагрівнику із зворотним холодильником протягом 30 хв. Витяжку фільтрували крізь паперовий фільтр і ще двічі аналогічно екстрагували. Спирто-водні витяжки одержували екстракцією 20 та 70% етанолем за методикою, наведеною вище.

Для попередньої оцінки якісного складу витяжок проводили загальноприйняті якісні реакції [2, 4], застосовували методи одномірної і двомірної паперової хроматографії (ПХ) на папері "Filtrak"(FN №4,12) у системі розчинників: н-бутиловий спирт — оцтова кислота — вода (4:1:2), 15% розчин оцтової кислоти, 2% розчин оцтової кислоти, етилацетат — мурашина кислота — вода (10:2:3).

Кількісне визначення груп БАР у траві сочевиці харчової

Кількісне визначення гідроксикоричних кислот і флавоноїдів проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густину вимірювали у кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі СФ-46 за відповідної довжини хвилі.

Гідроксикоричні кислоти. Вміст гідроксикоричних кислот визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на кислоту хлорогенову, яка міститься у найбільшій кількості. Вимірювання проводили за довжини хвилі 327 нм.

2,5 г (точна наважка) подрібненої сировини, яка проходить крізь сито з діаметром отворів 1 мм, поміщали в колбу місткістю 200 мл, додавали 60 мл води. Колбу приєднували до зворотного холодильника та нагрівали на водяній бані протягом 15 хв. Екстрагування проводили двічі. Екстракти поєднували і після охолодження фільтрували крізь паперовий фільтр на лійці Бюхнера. Фільтрат кількісно переносили в мірну колбу місткістю 200 мл і доводили об'єм розчину водою до позначки (розчин А).

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

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

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

де: A — оптична густина досліджуваного розчину; m — наважка сировини, г;

W — втрата в масі при висушуванні, %;

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ — питомий показник поглинання кислоти хлорогенової, що дорівнює 531.

Флавоноїди. 1,0 г (точна наважка) подрібненої сухої трави поміщали в колбу зі шліфом місткістю 150 мл, додавали 30 мл 70% спирту. Колбу зважували (із похибкою $\pm 0,01$), приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на киплячій водяній бані протягом 2 год, періодично струшуючи для змивання часток сировини зі стінок. Після охолодження колбу знову закривали пробкою, зважували, різницю у масі компенсували 70% спиртом і настоювали при періодичному збовтуванні протягом 1 год.

У мірну колбу місткістю 50 мл поміщали 1 мл екстракту з трави сочевиці, додавали 2 мл розчину алюмінію хлориду в 96% спирті та доводили об'єм розчину 96% спиртом до позначки (випробуваний розчин). Через 40 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі СФ-46 за довжини хвилі 405 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували розчин, що містив 1 мл витяжки, 2 краплі кислоти оцтової розведені та доведений 96% спиртом до позначки в мірній колбі місткістю 25 мл.

Паралельно вимірювали оптичну густину розчину ФСЗ ДФУ рутину, обробленого аналогічно досліджуваному розчину і приготованого таким

чином: близько 0,05 г ФСЗ ДФУ рутину, попередньо висушеного при температурі 130–135°C протягом 3 год, розчиняли у 85 мл 96% спирту в мірній колбі місткістю 100 мл при нагріванні на водяній бані, охолоджували, кількісно переносили у мірну колбу місткістю 100 мл, доводили об'єм розчину 96% спиртом до позначки та перемішували.

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

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

де: A — оптична густина випробуваного розчину; A_0 — оптична густина комплексу розчину ФСЗ ДФУ рутину з алюмінію хлоридом;

m — наважка сировини, г;

m_0 — наважка ФСЗ ДФУ рутину, г;

W — втрата в масі при висушуванні, %.

Поліфенольні сполуки. Вміст поліфенольних сполук визначали фармакопейним методом [2] та обчислювали за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

де: V — об'єм розчину калію перманганату (0,02 Моль/л), витраченого на титрування витяжки, мл;

V_1 — об'єм розчину калію перманганату (0,02 Моль/л), витраченого на титрування в контрольному досліді, мл;

0,004157 — кількість дубильних речовин, яка відповідає 1 мл розчину калію перманганату (0,02 Моль/л) у перерахунку на танін, г;

m — маса сировини, г;

W — втрата в масі при висушуванні, %.

Результати та їх обговорення

На підставі проведених реакцій та хроматографічного аналізу за характерною флуоресценцією у фільтрованому УФ-світлі до та після обробки хромогенними реактивами і величинами Rf у досліджуваній сировині встановлено наявність

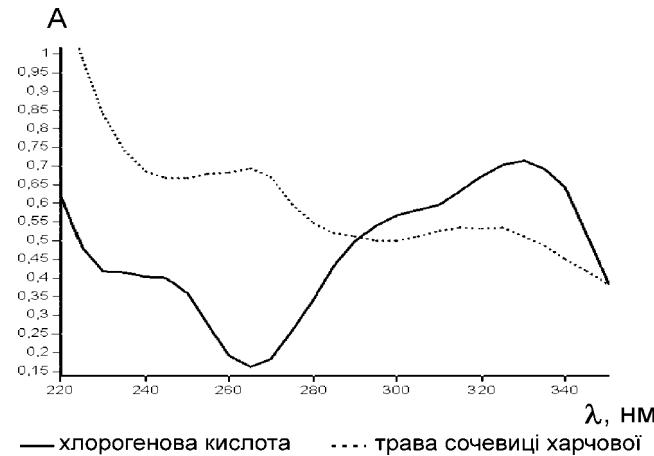


Рис. УФ-спектри: трави сочевиці харчової; хлорогенової кислоти.

Таблиця

Метрологічні характеристики кількісного вмісту фенольних сполук у траві *Lens culinaris* ($m=5$, $n=4$)

Група БАР	X_i	$X_{\text{ср}}$	S^2	$S_{\text{ср}}$	P	t (P, n)	Кількісний вміст	$\pm \varepsilon$, %
Флавоноїди	2,34; 2,30; 2,32; 2,34; 2,30	2,32	0,00108	0,014673	0,95	2,78	2,32±0,04	1,756
Гідроксикоричні кислоти	2,18; 2,14; 2,14; 2,16; 2,18	2,16	0,00093	0,013661	0,95	2,78	2,16±0,03	1,756
Поліфенольні сполуки	2,44; 2,40; 2,44; 2,42; 2,40	2,42	0,00117	0,015306	0,95	2,78	2,42±0,04	1,756

таких груп БАР: флавоноїдів, фенологлікозидів, кумаринів, сапонінів, дубильних речовин та гідроксикоричних кислот.

Найкращого поділу речовин 70% спиртових витяжок вдалося досягти шляхом використання методу двомірної паперової хроматографії у системах розчинників 1, 2. За даними хроматографічного аналізу у спирто-водних витяжках з трави виявлено не менше 12 речовин фенольної природи.

Методом прямої спектрофотометрії був отриманий спектр розчину 70% спиртової витяжки з досліджуваної сировини. Спектр представлений на рис. Як видно з рисунка, в УФ-спектрі випробуваного розчину відмічається максимум поглинання в межах 317-327 нм, що дозволило при встановленні кількісного вмісту гідроксикоричних кислот вести перерахунок на хлорогенову кислоту.

На основі якісних реакцій та хроматографічного аналізу було визначено, що трава сочевиці містить конденсовані дубильні речовини. Це до-

зволило провести кількісний аналіз суми дубильних речовин у перерахунку на танін фармакопейним методом.

Вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на рутин, тому що попередні хроматографічні дослідження показали наявність у траві сочевиці переважно біозидів.

Метрологічні характеристики кількісного визначення гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та суми окиснювальних поліфенолів наведені у таблиці.

ВИСНОВКИ

1. Фітохімічний аналіз трави сочевиці харчової показав наявність таких груп БАР: гідроксикоричних кислот, кумаринів, фенологлікозидів, флавоноїдів, дубильних речовин, сапонінів.

2. Вперше проведено визначення кількісного вмісту фенольних сполук у траві сочевиці харчової: гідроксикоричних кислот (2,16±0,03)%, флавоноїдів (2,32±0,04)%, поліфенольних сполук (2,42±0,04)%.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бородіна Н.В., Ковалев В.М. // Фармаком. — 2004. — №1. — С. 75-78.
2. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — С. 257.
3. Леонтьев В.М. Чечевица. — Ленинград: Колос, 1966. — 175 с.
4. Практикум по фармакогнозии: Учеб. пособ. для студ. вузов / Под ред. В.Н.Ковалева. — Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. — 512 с.
5. Химия и биохимия бобовых растений / Пер. с англ. К.С.Спектрова; Под ред. М.Н.Запрометова. — М.: Агропромиздат, 1986. — С. 115-121.
6. Bhatty Rattan S. // J. Agr. and Food Chem. — 1990. — Vol. 38, №2. — P. 376-383.
7. Bhatty R.S. // Can. Inst. Food Sci and Technol. J. — 1988. — Vol. 21, №2. — P. 144-160.
8. Dalgetty David D., Baik Byung-Kee // Cereal Chem. — 2003. — Vol. 80, №3. — P. 310-315.
9. Ferguson Morag E., Maxted Nigel, Robertson Larry D. // Bot. J. Linn. Soc. — 2000. — Vol. 133, №1. — P. 41-59.
10. Frais J., Doblaro R. // Eur. Food Res. and Technol. — 2003. — Vol. 216, №3. — P. 199-203.
11. Kuo Yu-Haey, Rosan Pascale // Food Chem. — 2004. — Vol. 86, №4. — P. 537-545.
12. Peace R.W., Keith M.O., Sarwar G., Botting H.G. // J. Food. Sci. — 1988. — Vol. 53, №2. — P. 439-441.

УДК 54.06:547.98:582.739

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ *LENS CULINARIS*

С.В.Романова, С.В.Ковалев

Проведено фітохіміческое исследование травы чечевицы пищевой. Установлено количественное содержание гідроксикоричных кислот (2,16±0,03)%, флавоноидов (2,32±0,04)%, поліфенольных соединений (2,42±0,04)%. Экспериментальные данные указывают на перспективность использования сырья для получения фармакологических средств.

UDC 54.06:547.98:582.739

THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF *LENS CULINARIS* PHENOLIC COMPOUNDS

S.V.Romanova, S.V.Kovalyov

The phytochemical investigation of lens culinaris herb has been carried out. The quantitative content of hydroxycinnamic acids (2,16±0,03)%, flavonoids (2,32±0,04)%, polyphenol compounds (2,42±0,04)%, has been determined. The experimental data indicate the perspective of using the raw material for obtaining pharmacological remedies.