

## Flavonoidų kiekio tyrimas vienapiestės gudobelės pumpuruose

Valdas Jakštas, Valdimaras Janulis, Juozas Labokas<sup>1</sup>

Kauno medicinos universiteto Farmacinės chemijos ir farmakognozijos katedra

<sup>1</sup>Botanikos instituto Ekonominės botanikos laboratorija, Vilnius

**Raktažodžiai:** vienapiestė gudobelė, *Crataegus monogyna*, ekotipas, pumpurai, flavonoidai.

**Santrauka.** Tyrimo tikslas. Nustatyti flavonoidų kiekius vienapiestės gudobelės *Crataegus monogyna* Jacq. pumpuruose; įvertinti galimybę naudoti gudobelių pumpurus kaip vaistinę augalinę žaliavą.

Tyrimo medžiaga ir metodai. Gudobelių pumpurų bandiniai surinkti 2001, 2002 ir 2003 metų balandžio mėnesiais Akmenės (V1, V2, V3), Kėdainių (Š1, Š2, Š3), Klaipėdos (M1), Lazdijų (D1, D2, D3) bei Vilniaus (VL1, VL2) regionuose nuo skirtingų vienapiestės gudobelės fenotipų apatinio ardo šakų; pumpurų bandiniai ekstrahuoti etanoliumi, flavonoidai nustatyti spektroskopiskai bei efektyviaja skysčių chromatografija.

Rezultatai. Gudobelių pumpuruose nustatyta 0,72–1,89 proc. flavonoidų; dominuojantis flavonoidas – viteksino-2-O-ramnozidas: 6,72–10,91 miligramai viename grame visiškai sausos žaliavos; mažesni kiekiai viteksino: 0,88–6,53 miligramai/grame; hiperozido: 0,85–2,70 miligramai/grame; rutino: 0,72–2,10 miligramai/grame; kvercitrino: 0,82–1,01 miligramai/grame.

Išvada. Vienapiestės gudobelės pumpurų fitocheminės sudėties rodmenys patvirtina teorinę galimybę gudobelių pumpurus vertinti kaip galimą flavonoidus kaupiančią vaistinę augalinę žaliavą. Be to, yra pagrindo planuoti išsamesnius fitocheminius ir farmakologinius šios gudobelių vaistinės žaliavos tyrimus.

### Įvadas

Pumpuras (*gemma*) – augalo organas, kurį sudaro jauni lapeliai, gaubiantys viršūnėje esantį augimo kūgelį. Prasidėjus naujam vegetacijos laikotarpiui bei išsiskleidus pumpurams, intensyviai pradeda augti lapai ir žiedai. Vienapiestės gudobelės (*Crataegus monogyna* Jacq.) lapai ir žiedai – vaistinė augalinė žaliava, aprašyta įvairiose farmakopėjose (1–3). Gudobelės pumpurai dabar nenaudojami kaip farmakopėjinė vaistinė augalinė žaliava, tačiau apie preparatų, pagamintų iš šios žaliavos, tinkamumą gydymui, medicinos literatūroje duomenų nepavyko rasti. Beje, lapai ir žiedai susiformuoja iš pumpurų, todėl yra didelė tikimybė, kad pumpuruose yra tų pačių farmakologiškai veikliųjų medžiagų kaip žieduose ir lapuose. Pagrindinės biologiškai aktyviosios medžiagos, kurių rasta vienapiestės gudobelės žieduose ir lapuose – tai flavonoidai ir jų glikozidai, oligomeriniai procianidinai, fenolinės rūgštys (1–4). Remiantis Europos farmakopėjos reikalavimais, gudobelių lapų ir žiedų kokybė vertinama pagal flavonoidų kiekį žaliavoje (1). Siekiant įvertinti flavonoidų kiekį gudobelių pumpuruose, atlikti Lietuvos teritorijoje augančių vienapiestės gudobelės rūšiai priklausančių kelių fenotipų pumpurų bandinių tyrimai. Duomenys

apie gudobelių pumpuruose esančius flavonoidų kiekius informatyvūs ne tik mokslininkams (farmakognostams, farmakologams, fitochemikams, botanikams) bet ir gamybininkams, besidomintiems naujais potencialiais vaistinės žaliavos šaltiniais.

**Tyrimo tikslas.** Nustatyti flavonoidų kiekius vienapiestės gudobelės įvairių ekotipų pumpuruose bei įvertinti galimybę gudobelės pumpurus naudoti kaip vaistinę žaliavą.

### Tyrimo medžiaga ir metodai

Gudobelių pumpurai rinkti 2001, 2002 ir 2003 metų balandžio mėnesio antroje pusėje Akmenės, Lazdijų, Kėdainių, Klaipėdos ir Vilniaus regionuose: Ventos (V1, V2, V3), Šušvės (S1, S2, S3) ir Minijos (M1) upių, Dusios ežero (D1, D2, D3) bei Vilniaus miesto (VL1, VL2) apylinkėse nuo skirtingų vienapiestės gudobelės ekotipų šakų, augančių 1–2 metrų aukštyje. Fitocheminiams tyrimams naudota orasausė žaliava.

Susmulkinta žaliava užpilta etanolio 70 proc. Bendras flavonoidų kiekis (atitinkantis rutino kiekį) nustatytas ištrauką veikiant aliuminio chlorido R tirpalu rūgščioje terpėje. Susidariusio flavonoidų ir aliuminio komplekso tirpalas analizuotas spektrofot-

tometriškai (bangos ilgis  $407 \pm 2$  nm); duomenys įvertinti remiantis absorbcijos koeficientu, jie lyginti su rutino standartinio tirpalo absorbcijos koeficientu. Kai kuriuose bandiniuose penkių pagrindinių flavonoidų kiekiai nustatyti efektyviosios skysčių chromatografijos metodu; mobilioji fazė – acetonitrilas R ir 0,1 proc. trifluoracto R rūgšties tirpalas vandenyje.

Nuodžiūvis (bendras drėgmės ir lakiųjų junginių kiekis) žaliavoje įvertintas palikus žaliavą džiovinimo spintoje iki visiško vandens bei lakiųjų junginių išgaravimo (5).

Rodmenys statistiškai įvertinti, apskaičiuotas eksperimentinių tyrimų duomenų matematinis vidurkis ir vidutinis kvadratinis nuokrypis.

### Rezultatai ir jų aptarimas

Susisteminti pumpurų bandinių tyrimų duomenys pateikiami lentelėse. Pirmoje lentelėje pateikiami spektrofotometrinės analizės duomenys rodo vidutinį procentinį flavonoidų ir jų glikozidų kiekį, perskaičiuotą rutino kiekiu visiškai sausoje masėje. Greta pateikiami apskaičiuoti vidutinio kvadratinio nuokrypio skaitiniai rodikliai. Flavonoidų kiekis tirtuose vienapiestės gudobelės ekotipų pumpuruose svyravo nuo 0,72 iki 1,89 proc. Didžiausi kiekiai nustatyti

Dusios (D1) ir Šušvės (Š1, Š2) ekotipuose. Pagal 2001 metų Europos farmakopėją flavonoidų kiekis gudobelės žiedų ir lapų vaistinėje žaliavoje turi būti ne mažesnis kaip 1,50 proc. (1), todėl galima teigti, kad kai kuriuose pumpurų bandiniuose suminis flavonoidų procentas pakankamai didelis, todėl gudobelių pumpurus galima vertinti kaip vaistinę augalinę žaliavą. Nemažus flavonoidų suminio kiekio skirtumus skirtinguose pumpurų bandiniuose galima būtų paaiškinti skirtumais tarp populiacijų, iš kurių jie kilę. Tą patvirtina ir analogiški flavonoidų kiekio skirtumai, nustatyti gudobelių lapuose bei žieduose (4). Tikėtina ir tam tikra aplinkos faktorių įtaka rezultatams.

Vienapiestės gudobelės pumpuruose ir žieduose bei lapuose gali būti natūraliųjų kai kurių flavonoidų ir jų glikozidų kiekybinės sudėties skirtumų. Siekiant patikrinti šią hipotezę, efektyviosios skysčių chromatografijos tyrimams atsitiktinės atrankos būdu atrinkti ekotipų V1, V2, D3 pumpurų bandiniai. Antroje lentelėje pateikiami šiuose bandiniuose efektyviaja skysčių chromatografija nustatyti viteksino-2-O-ramnozido, viteksino, kvercitrino, hiperozido, rutino kiekiai miligramais viename žaliavos grame. Tirtuose bandiniuose V1 ir V2 dominuoja viteksino-2-O-ramnozidas. Dominuojantys flavonoidai bandinyje D3 yra

1 lentelė. Bendras flavonoidų kiekis įvairių vienapiestės gudobelės ekotipų pumpuruose

Bandinys	Rajonas	Rinkimo data	Nuodžiūvis (proc.)	Flavonoidų kiekis (proc.)
V1	Akmenės	01 04 25	6,38	1,07±0,03
V2	Akmenės	01 04 25	6,61	1,29±0,02
V3	Akmenės	01 04 25	6,33	1,15±0,24
D1	Lazdijų	01 04 25	6,33	1,89±0,51
D2	Lazdijų	01 04 25	6,78	1,14±0,25
D3	Lazdijų	01 04 25	6,60	1,17±0,02
Š1	Kėdainių	01 04 25	6,34	1,87±0,08
Š2	Kėdainių	01 04 25	6,41	1,75±0,17
Š3	Kėdainių	01 04 25	6,29	1,32±0,07
M1	Klaipėdos	02 04 17	6,87	1,26±0,10
VL1	Vilniaus	03 04 30	7,48	0,77±0,06
VL2	Vilniaus	03 04 30	8,61	0,72±0,03

2 lentelė. Flavonoidų kiekiai (mg/g) pumpurų bandiniuose

Bandinys	Viteksino-2-O-ramnozidas	Viteksinas	Hiperozidas	Kvercitrinas	Rutinas
V1	10,91±0,11	0,88±0,33	0,85±0,07	1,01±0,11	2,10±0,11
V2	17,01±0,17	0,89±0,16	0,91±0,05	1,72±0,11	0,60±0,01
D3	6,72±0,21	6,53±0,50	2,70±0,07	0,82±0,10	0,72±0,08

viteksino-2-O-ramnozidas ir viteksinas. Remiantis medicinos literatūroje skelbtais duomenimis, vienapiestės gudobelės lapuose ir žieduose dominuoja hiperozidas (3, 4), todėl galima teigti apie pumpurų flavonoidų kokybinės sudėties skirtumus tarp pumpurų ir žiedų bei lapų.

Literatūros šaltiniuose nurodoma (6), kad skirtingi flavonoidai ir jų glikozidai pasižymi skirtingu biologiniu aktyvumu, todėl tikslinga tirti šios perspektyvios vaistinės augalinės žaliavos farmakologinį poveikį. Siekiant tiksliau įvertinti flavonoidų bei kitų veikliųjų medžiagų kiekio svyravimo priklausomumą vienapiestės gudobelės pumpuruose, taip pat gudobelės pumpurų vartojimo farmacijos praktikoje galimybę, reikia išsamesnių fitocheminių, genetinių bei farmakologinių tyrinėjimų.

### Išvados

1. Lietuvoje surinktuose gudobelėlių pumpuruose nustatytas suminis flavonoidų kiekis – nuo 0,72 iki 1,89 procentų. Flavonoidų kiekis priklauso nuo šio augalo ekotipų individualių savybių.

2. Efektyviosios skysčių chromatografijos metodu tirtų vienapiestės gudobelės ekotipų pumpurų bandiniuose vyrauja viteksino-2-O-ramnozidas; tuo pumpurai skiriasi nuo vienapiestės gudobelės žiedų ir lapų, kuriuose vyrauja hiperozidas.

3. Vienapiestės gudobelės pumpurų fitocheminės sudėties rodikliai patvirtina galimybę gudobelėlių pumpurus vertinti kaip galimą flavonoidus kaupiančią vaistinę augalinę žaliavą, be to, yra pakankamas pagrindas planuoti išsamesnius fitocheminius ir farmakologinius šios gudobelėlių vaistinės žaliavos tyrinėjimus.

## Research of the amounts of flavonoids accumulated in the buds of single-styled hawthorn

Valdas Jakštas, Valdimaras Janulis, Juozas Labokas<sup>1</sup>,

Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Kaunas University of Medicine

<sup>1</sup>Laboratory of Economical Botany, Institute of Botany, Vilnius, Lithuania

**Key words:** single-styled hawthorn, *Crataegus monogyna*, ecotype, buds, flavonoids.

**Summary.** *Objective.* To determine the amounts of flavonoids accumulated in the buds of single-styled hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.); and to establish the possibility of usage of hawthorn buds in pharmacy practice.

*Material and methods.* Different examples of hawthorn buds collected in 2001, 2002 and 2003 from some Lithuanian regions: Akmenė (V1, V2, V3), Kėdainiai (Š1, Š2, Š3), Klaipėda (M1), Lazdijai (D1, D2, D3) and Vilnius (VL1, VL2) from branches of lower storey. Examples were extracted with ethanol and flavonoids were measured by spectroscopic method and by high performance liquid chromatography.

*Results.* From 0.72 to 1.89% of flavonoids are found in the hawthorn buds. The dominating flavonoid is vitexin-2-O-rhamnosid (6.72–10.91 milligrams in one gram of dried crude drug). Other flavonoids are: vitexin: 0.88–6.53 milligrams/gram, hyperosid: 0.85–2.70 milligrams/gram, rutin: 0.72–2.10 milligrams/gram and quercitrin: 0.82–1.01 milligrams/gram.

*Conclusion.* The marks of phytochemical compounds of Lithuanian single-styled hawthorn buds corroborated the theory of possibility to use hawthorn buds as pharmaceutical crude drug and form sufficient ground for planning phytochemical and pharmacological researches of new hawthorn crude drug.

Correspondence to V. Jakštas, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Kaunas University of Medicine, A. Mickevičiaus 9, 44307 Kaunas, Lithuania. E-mail: valdas.jakstas@med.kmu.lt

### Literatūra

1. European Pharmacopeia. Strasbourg: Council of Europe; 2000. p. 930-1.
2. Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal medicines. London, Chicago: Pharmaceutical Press; 2002. p. 284-7.
3. Bruneton J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Paris: Lavoisier Publishing; 1995. p. 330-1.
4. Jakštas V, Janulis V, Labokas J. Lietuvoje augančių *Crataegus monogyna* Jacq. žiedų ir lapų fitocheminė analizė. (Phytochemical analysis of leaves and flowers of *Crataegus monogyna* growing in Lithuania). Biomedicina 2002;2:146-8.
5. Farmakopėjos straipsnių rinkinys 2001. (Collection of Pharmacopoeia articles 2001.) Kaunas: Valstybinė vaistų kontrolės tarnyba prie Lietuvos Respublikos sveikatos apsaugos ministerijos; 2001. p. 30-1.
6. Havsteen BH. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology & Therapeutics 2002;96:89-90, 95-7.

*Straipsnis gautas 2004 03 23, priimtas 2004 05 24*

*Reveived 23 March 2004, accepted 24 May 2004*