



Аграрен университет – Пловдив, Научни трудове, т. LIX, кн. 2, 2015 г.
Юбилейна научна конференция с международно участие
Традиции и предизвикателства пред аграрното образование, наука и бизнес
Agricultural University – Plovdiv, Scientific Works, vol. LIX, book 2, 2015
Jubilee Scientific Conference with International Participation
Traditions and Challenges of Agricultural Education, Science and Business



**ФИТОХИМИЧНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ НА *RANUNCULUS ARVENSIS* L. И
RANUNCULUS REPENS L. (*RANUNCULACEAE* JUSS)
PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF *RANUNCULUS ARVENSIS* L. AND
RANUNCULUS REPENS L. (*RANUNCULACEAE* JUSS)**

**Георги Дочев*, Иван Жалнов
Georgi Dochev*, Ivan Zhalnov**

Аграрен университет – Пловдив
Agricultural University – Plovdiv

*E-mail: georgi_agro@abv.bg

Abstract

The species of genus *Ranunculus* L. (Buttercup) have a complex chemical composition, which is an important taxonomic feature. They synthesize saponins, alkaloids, flavonoids, phenolic acids, etc. The aim of the research was to study the changes in the content of the total phenols and flavonoids in different populations of *Ranunculus arvensis* L. (section *Echinela*) and *Ranunculus repens* L. (section *Ranunculus*) in three vegetation periods. It was found that the amount of the total phenolics and flavonoids remained constant over the years. There was a difference in the amount of the total phenols and flavonoids between *R. arvensis* L. and *R. repens* L., which was in accordance with the sectional grouping.

Key words: genus *Ranunculus* L., taxonomy, total phenols, total flavonoids.

ВЪВЕДЕНИЕ

Род *Ranunculus* L. (Лютиче) е най-големият род в семейство *Ranunculaceae* Juss. Той обхваща около 600 вида от космополити до локални ендемити (Tamura, 1991). В България по последни данни са описани 43 вида лютичета, разпределени в няколко секции (Stoyanov, 1948).

Видовете от род *Ranunculus* L. имат сложен химичен състав, който е важен таксономичен белег (Wang, 1979).

Фитохимични изследвания, проведени върху видове лютичета, показват, че те синтезират различни вторични метаболити като тритерпенови сапонини, алкалоиди, флавоноиди, фенолни киселини, мастни киселини и органични киселини. Повечето от тези вещества имат висока антиоксидантна активност (Kenneth, 1997; Okwu, 2001; Noor, 2006; Liang, 2008).

Голяма част от видовете на род *Ranunculus* L. са с доказано фармакологично действие. Екстрактите им се прилагат като антибиотично, противовъзпалително, противораково, болкоуспокояващо и диуретично средство (Yin, 2008; Iqbal, 2011). Различни части от лютичетата – корени, стъбла, цветове, се използват за лечение на заболявания като запек, ревматизъм, хемороиди, отток, жълтеница (Кауа, 2010; Aslam, 2012).

Целта на изследването е да се проследи изменението в съдържанието на фенолни киселини и флавоноиди при различни популации *Ranunculus arvensis* L. (секция *Echinela*) и *Ranunculus repens* L. (секция *Ranunculus*) от три вегетационни периода.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Използван е сух, смлян на прах растителен материал от листа, цветове и стъбла от собствени сборове на популации *Ranunculus arvensis* L. (секция *Echinela*) от София, Пловдив, Брацигово, Ахтопол и на популации *Ranunculus repens* L. (секция *Ranunculus*) от Малко Търново, Пловдив, Габрово, р. Резовска. Проследено е изменение в съдържанието на фенолни киселини и флавоноиди за периода 2012 г.–2014 г.

Един грам смлян растителен материал се залива с 25 ml 70%-ов етанол в ерленмайерова колба. Сместа се екстрахира на ултразвукова вана в продължение на 60 минути при 50°C. От получените екстракти се определя спектрофотометрично общото фенолно и флавоноидно съдържание. Общото фенолно съдържание се определя по метода на Folin-Ciocalteu (Waterman, 1994). Съдържанието на общи феноли се изразява като mg екв. галова киселина/1g сух растителен материал.

Общото флавоноидно съдържание се определя по процедура на Christ & Mueller (1960), която е възприета от Германската фармакопея за анализ на съдържанието на тотални флавоноиди в дроги и фитопрепарати. Съдържанието на тоталните флавоноиди в изходната проба екстракт се изразява като mg екв. кверцетин/1g сух растителен материал.

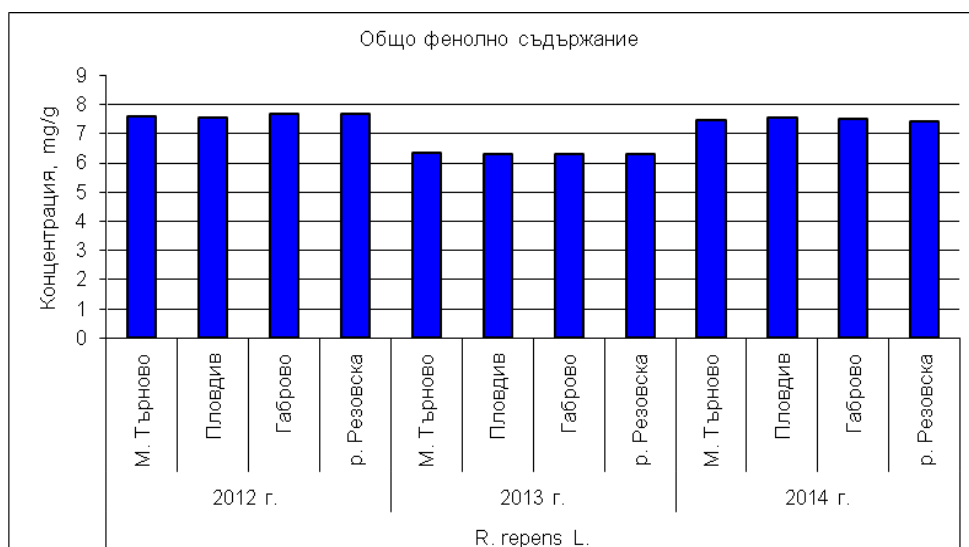
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Фенолните съединения и флавоноидите са голяма група водоразтворими съединения, които се извличат в най-големи количества с полярни разтворители (Канкопен, 1999). Това ни насочи към екстракция с 70%-ов етанол. Според Кауа (2010) метанолни екстракти, получени от видове *Ranunculus*, показват най-високо фенолно и флавоноидно съдържание и показват най-висока антиоксидантна и противомикробна активност.

Фенолни съединения

При направения фитохимичен анализ на вид *Ranunculus repens* L. (секция *Ranunculus*) от различни местообитания през три последователни вегетационни периода (2012 г., 2013 г., 2014 г.) установихме, че не се наблюдават съществени различия в съдържанието на общите феноли. Фенолното съдържание в *Ranunculus repens* L. е около 7.5–7.6 mg екв. галова киселина/1 g сух растителен материал за вегетационен период 2012 г. и 2014

г. По-малко количество фенолни киселини е отчетено през 2013 г. – около 6.3 mg екв. галова киселина/1 g сух растителен материал. Графично резултатите са представени на фиг. 1.



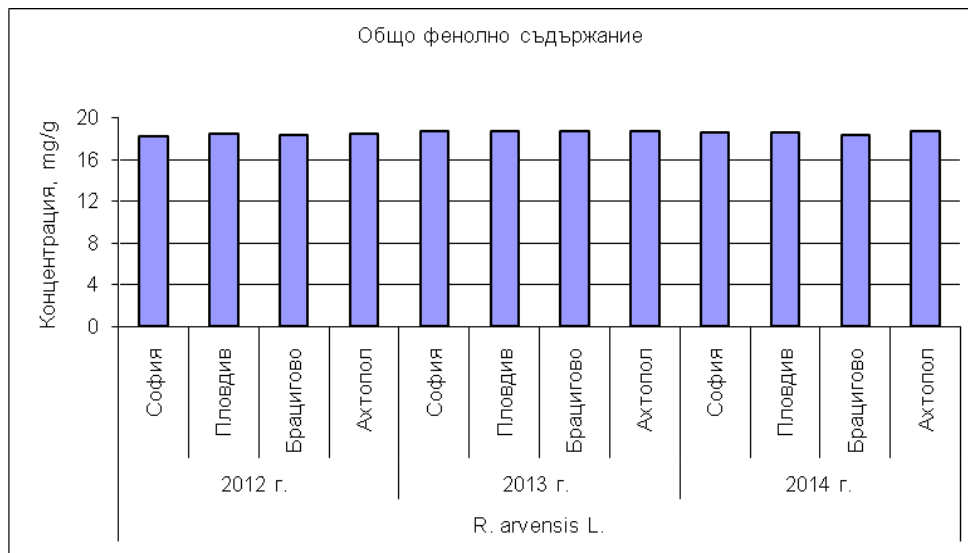
Фиг. 1. Общо фенолно съдържание на *Ranunculus repens* L. (секция *Ranunculus*) от различни местообитания за вегетационен период 2012 г., 2013 г., 2014 г.

Fig. 1. Total phenolic content of *Ranunculus repens* L. (section *Ranunculus*) from different habitats for vegetation periods 2012, 2013, 2014

Количеството на общите феноли, отчетено при *Ranunculus arvensis* L. (секция *Echinela*), е около 18 mg екв. галова киселина/1 g сух растителен материал. Съществени различия през вегетационните периоди (2012 г., 2013 г. и 2014 г.) и местообитания (София, Пловдив, Брацигово и Ахтопол) не се наблюдават (фиг. 2).

При сравняване на количеството на фенолните киселини, съдържащи се в български таксони *Ranunculus repens* L. (секция *Ranunculus*) и *Ranunculus arvensis* L. (секция *Echinela*), установихме, че при *Ranunculus arvensis* L. е установено два пъти по-високо съдържание на общи феноли (18 mg екв. галова киселина/1 g сух растителен материал) в сравнение с *Ranunculus repens* L. (средно около 7 mg екв. галова киселина/1 g сух растителен материал).

При анализ на таксони *Ranunculus arvensis* L. от Пакистан е отчетено много по-високо съдържание на фенолни киселини в сравнение с българските представители.



Фиг. 2. Общо фенолно съдържание на *Ranunculus arvensis* L. (секция *Echinela*) от различни местообитания за вегетационен период 2012 г., 2013 г., 2014 г.

Fig. 2. Total phenolic content of *Ranunculus arvensis* L. (section *Echinela*) from different habitats for vegetation periods 2012, 2013, 2014

Количеството на извлечените фенолни съединения с малко полярните разтворители хлороформ и етилацетат е съответно 104.6 mg/g и 103.1 mg/g. При увеличаване на полярността на разтворителя (вода) се увеличава добивът на фенолни съединения – 121.6 mg/g. Най-нисък добив на фенолни киселини (1 mg/g) е отчетен при използването на неполярния разтворител n-хексан (Aslam, 2012).

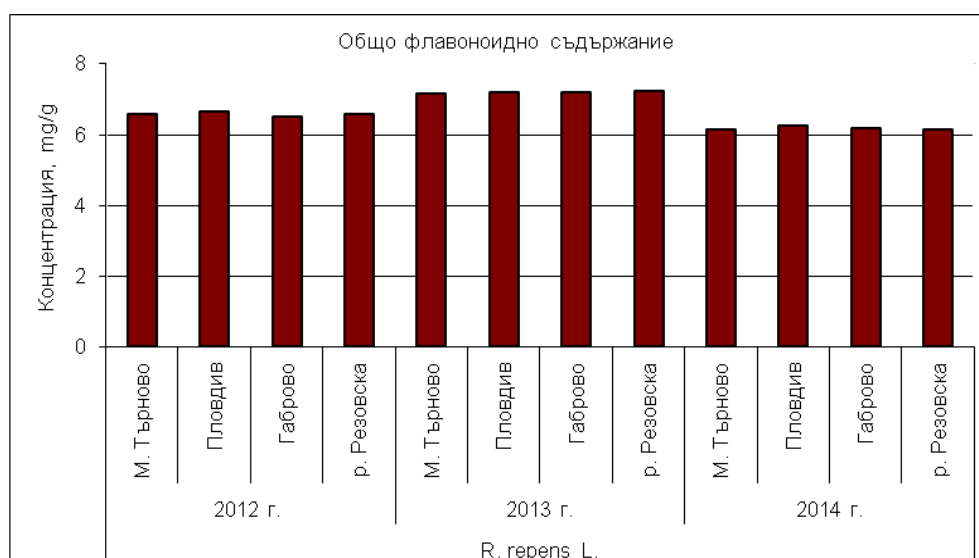
Флавоноиди

Според данни от фитохимични изследвания, публикувани в литературата, видовете от род *Ranunculus* L. съдържат флавоноиди гликозиди от кверцетинов, кемферолов и апигенинов тип, флаволи и др. (Aslam, 2012).

На фиг. 3 е представено графично общото флавоноидно съдържание на вида *Ranunculus repens* L. (секция *Ranunculus*) от различни местообитания през вегетационен период 2012 г., 2013 г., 2014 г. Получените данни сочат, че количеството на тоталните флавоноиди, подобно на това на общите феноли, не зависи от локалитета на изследваните видове. То се запазва сравнително постоянно през годините.

През вегетационния период 2012 г. и 2014 г. при *Ranunculus repens* L. е отчетено флавоноидно съдържание между 6.5 ± 0.2 mg екв. кверцетин/1 g

сух растителен материал и 6.6 ± 0.2 mg екв. кверцетин/1 g сух растителен материал. По-високо съдържание на тотални флавоноиди (подобно на общите феноли) при *Ranunculus repens* L. е установено през вегетационния период 2013 г. – 7.2 ± 0.3 mg екв. кверцетин/1 g сух растителен материал.



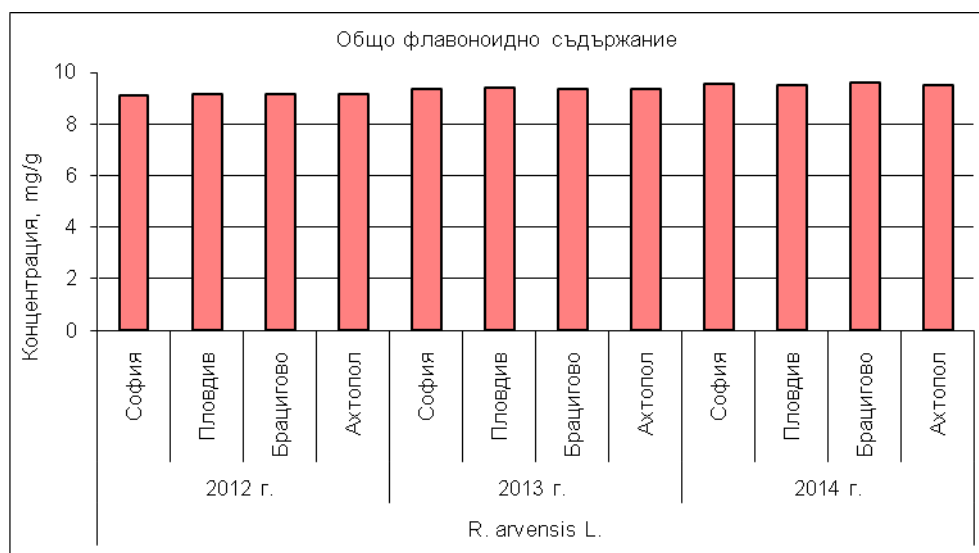
Фиг. 3. Общо флавоноидно съдържание на *Ranunculus repens* L. (секция *Ranunculus*) от различни местообитания за вегетационен период 2012 г., 2013 г., 2014 г.

Fig. 3. Total flavonoid content of *Ranunculus repens* L. (section *Ranunculus*) from different habitats for vegetation periods 2012, 2013, 2014

Малките вариации в количеството на фенолните киселини и на флавоноидите при *Ranunculus repens* L. през различните вегетационни периоди най-вероятно се дължат на климатичните промени. Установява се голяма разлика в температурата на въздуха през периода на усилен цъфтеж (м. май и м. юни) – за вегетационен период 2012 г. средната температура е 27°C , а за 2013 г. – 23°C (www.stringmeteo.com). Както е известно, вторичните метаболити, каквито са фенолните киселини и флавоноидите, се синтезират при стрес – хранителен, климатичен, болести (Harbone, 2000).

При *Ranunculus arvensis* L. (секция *Echinela*) (фиг. 4) се отчита по-високо общо флавоноидно съдържание (около 9 mg екв. кверцетин/1 g сух растителен материал) в сравнение с това при *Ranunculus repens* L. (секция *Ranunculus*) – средно 6.75 mg екв. кверцетин/1 g сух растителен материал. Количеството им се запазва постоянно през различните вегетационни периоди и в различните локалитети на страната.

Графично резултатите са представени на фиг. 4.



Фиг. 4. Общо флавоноидно съдържание на *Ranunculus arvensis* L. (секция *Echinela*) от различни местообитания за вегетационен период 2012 г., 2013 г., 2014 г.

Fig. 4. Total flavonoid content of *Ranunculus arvensis* L. (section *Echinela*) from different habitats for vegetation periods 2012, 2013, 2014

Сравнявайки съдържанието на флавоноиди в български таксони *Ranunculus arvensis* L. и такива от Пакистан, публикувани в литературата, установихме значителни различия – 9 mg екв. кверцетин/1 g сух растителен материал и 134.15 mg/g съответно.

Наблюдават се големи различия в съдържанието на фенолните съединения и флавоноидите в таксоните от България и Пакистан. Те най-вероятно се дължат на почвено-климатичните условия и на растителния стрес.

Известно е, че вторичните метаболити, каквито са фенолните киселини и флавоноидите, увеличават значително количеството си при стрес – климатични промени, заболявания и др. (Harbone, 2000).

ИЗВОДИ

1. Получените данни сочат, че съдържанието на фенолни киселини и флавоноиди не зависи от локалитета на растенията. Количеството на фенолните киселини и флавоноиди се запазва сравнително постоянно през трите вегетационни периода.

2. Наблюдава се значителна разлика в количеството на общите феноли между *R. arvensis* L. (секция *Echinela*) и *R. repens* L. (секция *Ranunculus*). Количеството на фенолните киселини, отчетено при *R. arvensis* L. (секция *Echinela*), е почти два пъти повече от това, съдържащо се в *R. repens* L. (секция *Ranunculus*).

3. Установяват се различия в количеството на флавоноидите при изследваните видове – при *R. arvensis* L. е установено около 9.50 mg екв. кверцетин/1 g сух растителен материал, а при *R. repens* L. – около 6.50 mg екв. кверцетин/1 g сух растителен материал.

4. От получените резултати може да се заключи, че съдържанието на фенолни киселини и флавоноиди е в съответствие със секционното групиране.

REFERENCES

- Aslam, M., B. Choudhary, M. Uzair, S. Ijaz, 2012. The genus *Ranunculus*: A phytochemical and ethnopharmacological review. *Int. J. Pharm Sci.* 4 (5), 15-22.
- Christ, B., K. Mueller, 1960. Zur serienmaessigen Bestimmung des Gehaltes an Flavonol-Derivaten in Drogen. *Arch. Pharm.* 293, 1033–1035.
- Iqbal, H., Z. Sher, Z. Zuklan, 2011. Medicinal plants from salt range Pind Dadan Khan district Jhelum Punjab Pakistan. *Journal of Medicinal Plants*, 5 (11), 2157–2168.
- Harborne, J., C. Williams, 2000. Advances in flavonoid research since 1992 - Review *Phytochemistry* 55, 481–504.
- Kahkonen, M., A. Hopia, H. Vuorela, J. Rauha, K. Pihlaja, T. Kujala, M. Heinonen, 1999.: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds *J. Agric. Food Chem.* 47, 3954–3962.
- Kaya, G., N. Unver, S. Konyalioglu, H. Yalcyn, N. Karabai, B. Sarikaya, M. Onur, 2010. Antioxidant and antibacterial activities of *Ranunculus marginatus* var. *trachycarpus* and *R. sprunerianus*. *Turc. J. Biol.* 34, 139–146.
- Kenneth, M., K. Mitchell, M. Campos, 1997. An unusual Lipophilic Flavonol glycoside from *Ranunculus Sardous* Pollen. *Phytochemistry* 1997, 45 (1), 203-204.
- Liang, Y, Z. Chen, L. Liu, 2008. Studies on chemical constituents of *Ranunculus japonicus*. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 33: 2201–2203.
- Noor, W, R. Gul, I. Ali, 2006. Isolation and antibacterial activity of the compounds from *Ranunculus repens* L. *J Chem Soc Pak* 28, 271–274.
- Okwu, D., 2001. Evaluation of the chemical composition of indigenous spices and flavoring Agents. *Global J. Pure Appl. Sci.*, 8, 455–459.
- Stoyanov, N., B. Stefanov, 1948. *Flora of Bulgaria*, 3.
- Tamura, M., 1991. A new classification of the family Ranunculaceae 2. *Acta Phytotax. Geobot.* 42, 177–187.
- Yin, C., L. Fan, L. Zhang, Z. Lin, J. He, M. Liu, Y. Wang, 2008. The inhibiting effect of extracts in *Radix Ranunculi Ternati* on the growth of human breast cancer cells in vitro. *Chinese journal of hospital pharmacy*, DOI:CNKI:SUN:ZGYZ.0.2008-02-002.

Wang, W., 1979. Ranunculaceae. Flora of China (27, 28). Beijing: SciencePress (in Chinese).

Waterman, P., S. Mole, 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Oxford: Boston: Blackwell Scientific.

<http://www.stringmeteo.com/>