

Л. В. Команюк, Р. Ю. Басараба
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ДОСЛІДЖЕННЯ СПОЛУК ФЕНОЛЬНОЇ ПРИРОДИ В СИРОВИНІ РУДБЕКІЇ ВОЛОСИСТОЇ

Вступ. Рудбекія волосиста (*Rudbeckia hirta* L.) – трав'яниста рослина родини Asteraceae, яку використовували з давніх-давен для лікування запальних захворювань, як-от застуда, виразки, та після укусів змії. Рудбекію волосисту використовують у традиційній медицині в деяких регіонах Північної Америки. Екстракти з коренів *Rudbeckia hirta* L. використовують для лікування гінекологічних захворювань і захворювань, що передаються статевим шляхом. Полісахариди, які містить рудбекія волосиста, проявляють імуномодулюючі властивості.

Мета дослідження – провести визначення індивідуальних компонентів флавоноїдів і кислот гідроксикоричних у траві рудбекії волосистої методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

Методи дослідження. Матеріалом для досліджень була трава рудбекії волосистої, яку заготовляли на території Чернівецької області. Методом високоефективної рідинної хроматографії визначали індивідуальні компоненти флавоноїдів і кислот гідроксикоричних на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200.

Результати й обговорення. Методом високоефективної рідинної хроматографії встановлено вісім індивідуальних компонентів флавоноїдів, серед яких рутин (1 308,96 мкг/г), ізокверцетин (97,68 мкг/г), астрагалін (43,93 мкг/г), нарингін (673,82 мкг/г), фізетин (2 381,39 мкг/г), кверцетин (800,9 мкг/г), апігенін (307,95 мкг/г), байкалейн (562,72 мкг/г). Серед індивідуальних компонентів кислот гідроксикоричних встановлено наявність і визначено кількісний вміст кислоти хлорогенової (7 992,58 мкг/г), р-кумарової (763,85 мкг/г), кофейної (191,45 мкг/г), сирінгової (210,95 мкг/г), транс-цинамової (93,47 мкг/г), хінної (85,35 мкг/г), синапової (15,11 мкг/г), транс-ферулової (12,63 мкг/г).

Висновки. Визначено індивідуальні компоненти сполук фенольної природи у траві рудбекії волосистої методом високоефективної рідинної хроматографії. Установлено, що серед індивідуальних компонентів флавоноїдів найбільший вміст становили фізетин (2 381,39 мкг/г) та рутин (1 308,96 мкг/г). Серед індивідуальних компонентів кислот гідроксикоричних найбільший вміст становила кислота хлорогенова (7 992,58 мкг/г). Отримані результати свідчать про перспективність подальших поглиблених фітохімічних досліджень біологічно активних речовин трави рудбекії волосистої.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: рудбекія волосиста; *Rudbeckia hirta* L.; кислоти гідроксикоричні; флавоноїди; ВЕРХ.

ВСТУП. Одним із завдань фармацевтичної науки на сучасному етапі розвитку є пошук нових джерел ефективних препаратів. Цьому сприяє розширення асортименту лікарських рослин завдяки повному використанню власних ресурсів дикорослої сировини. Під час створення нових фітозасобів учені звертають особливу увагу на рослини, які здавна використовують у народній медицині. Перевагою фітотерапії є доступність і відносна дешевизна порівняно із синтетичними лікарськими засобами. Рослинні препарати можуть проявляти широкий терапевтичний спектр, впливати на більшість ланок патогенезу захворювання. Фітопрепарати можна тривало застосовувати, вони мають меншу кількість побічних ефектів для організму людини. Перспективною та маловивченою рослиною в цьому плані є рудбекія волосиста.

Рудбекія волосиста (*Rudbeckia hirta* L.) – популярна садова трав'яниста рослина родини Asteraceae, яку використовували з давніх-давен американські індіанці для лікування запальних захворювань, як-от застуда, виразки, а також у разі укусів змії [1]. *Rudbeckia hirta* використовується у традиційній медицині в кількох регіонах Північної Америки. Наприклад, племена черокі й ірокезів використовували рослину як глистогінний засіб, у вигляді відварів, приготуваних із її коренів [2]. Також відомо, що екстракти з коренів рудбекії використовуються для лікування гінекологічних захворювань і захворювань, що передаються статевим шляхом [3].

Попередні дослідження показали, що рослини роду *Rudbeckia* володіють антимікробними властивостями [4]. Окрім того, полісахариди, які містить рудбекія, виявляють імуномодулюючу властивість [5]. Сесквітерпени, які містяться в рослинах родини

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Asteraceae, тобто гермакрен D, δ -кадинен і лактон типу псевдогваяноліду – рудбеколід, які показали значну інгібіторну активність 5-ліпоксигенази *in vitro*, також були виділені із квіток *Rudbeckia hirta* [6; 7].

Мета нашої роботи – провести визначення індивідуальних компонентів флавоноїдів і кислот гідроксикоричних у траві рудбекії волосистої методом вискоєфективної рідинної хроматографії (далі – ВЕРХ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом вивчення була трава рудбекії волосистої, яку заготовляли на території Чернівецької області.

Визначення індивідуальних компонентів флавоноїдів і кислот гідроксикоричних проводили методом ВЕРХ на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200.

Як рухому фазу для визначення флавоноїдів використовували ацетонітрил (А) і 0,1% розчин мурашиної кислоти у воді (В). Елюювання проводили у градієнтному режимі: 0 хв – А (5%) : В (95%); 20 хв – А (30%) : В (70%); 30 хв – А (60%) : В (40%); 50 хв – А (100%) : В (0%); 60 хв – А (100%) : В (0%). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 x 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку – 0,25 мл/хв, температура термостата – 30°C, об'єм інжекції – 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу за 280 та 365 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210–700 нм [8].

Як рухому фазу для визначення кислот гідроксикоричних використовували метанол (А) і 0,1% розчин мурашиної кислоти у воді (В). Елюювання проводили у градієнтному режимі: 0 хв – А (25%) : В (75%); 25 хв – А (75%) : В (25%); 27 хв – А (100%) : В (0%); 35 хв – А (100%) : В (0%). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-Aq (4,6 мм $\pm$ 150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку – 0,5 мл/хв, температура термостата – 30°C, об'єм інжекції – 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу за 250 та 275 нм і фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210–700 нм [9].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних компонентів флавоноїдів у досліджуваній сировині визначали методом вискоєфективної рідинної хроматографії (рис. 1).

Флавоноїди є важливою групою вторинних метаболітів і джерелом біологічно активних сполук у рослинах. У траві рудбекії волосистої виявлено такі флавоноїди: рутин,

ізокверцетин, астрагалін, нарингін, фізетин, кверцетин, апігенін, байкалеїн. У таблиці 1 наведено концентрацію флавоноїдів у траві рудбекії волосистої. Найбільшу кількість серед індивідуальних сполук флавоноїдів становили фізетин (2 381,39 мкг/г) і рутин (1 308,96 мкг/г) (табл. 1).

Таблиця 1 – Результати ВЕРХ індивідуальних сполук флавоноїдів у траві *Rudbeckia hirta* L.

Час утримання, хв	Назва ідентифікованої сполуки	Кількісний вміст, мкг/г
22.23	Рутин	1 308,96
23.42	Ізокверцетин	97,68
25.63	Астрагалін	43,93
26.20	Нарингін	673,82
27.72	Фізетин	2 381,39
33.46	Кверцетин	800,90
38.68	Апігенін	307,95
39.55	Байкалеїн	562,72

Натепер флавоноїди вважаються незамінним компонентом у різноманітних нутрицевтичних, фармацевтичних, медичних і косметичних застосуваннях. Це пояснюється їхніми антиоксидантними, протизапальними, антимутагенними й антиканцерогенними властивостями в поєднанні з їхньою здатністю модулювати ключову функцію клітинного ферменту.

Аналіз ВЕРХ трави рудбекії волосистої показує наявність деяких кислот гідроксикоричних (табл. 2). Хроматограма ВЕРХ гідроксикоричних кислот трави *Rudbeckia hirta* L. наведена на рисунку 2. У сировині виявлено такі гідроксикоричні сполуки: хлорогенову кислоту, кофейну кислоту, сирінгову кислоту, *p*-кумарову кислоту, *транс*-ферулову кислоту, синапову кислоту, *транс*-цинамову кислоту та хінну кислоту (рис. 2).

Таблиця 2 – Результати ВЕРХ аналізу індивідуальних сполук кислот гідроксикоричних у траві рудбекії волосистої

Час утримання, хв	Назва ідентифікованої сполуки	Кількісний вміст, мкг/г
11.07	хлорогенова кислота	7 992,58
12.40	кофейна кислота	191,45
14.38	сирінгова кислота	210,95
16.32	<i>p</i> -кумарова кислота	763,85
17.85	<i>транс</i> -ферулова кислота	12,63
19.27	синапова кислота	15,11
22.92	<i>транс</i> -цинамова кислота	93,47
23.49	хінна кислота	85,35

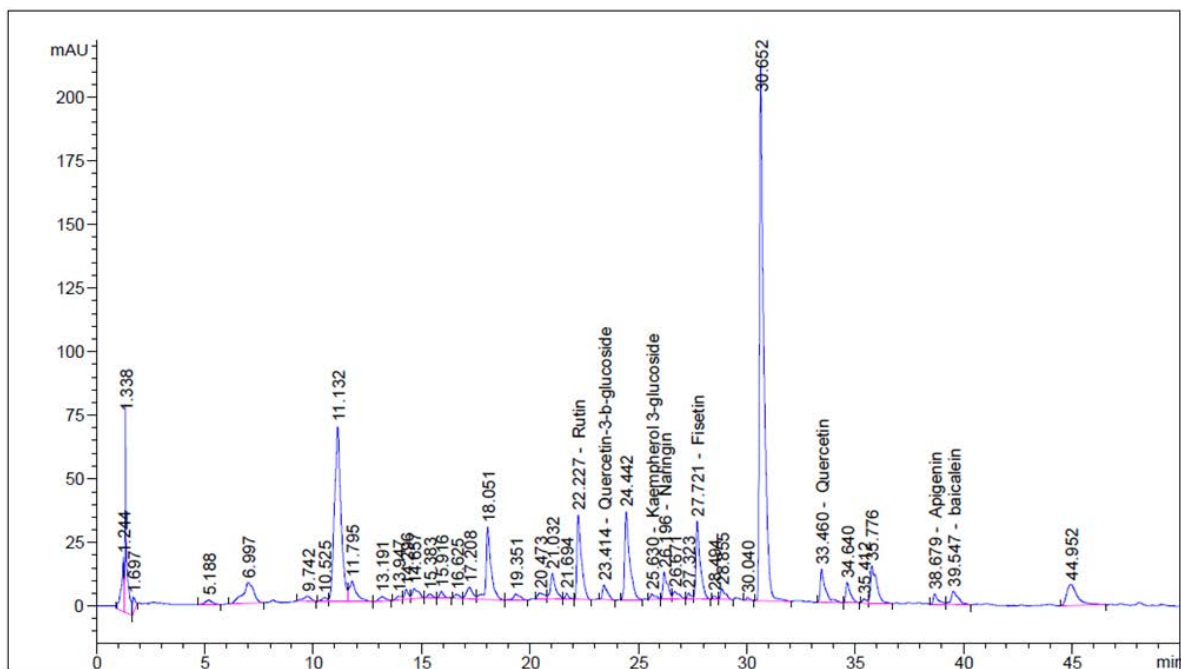


Рис. 1. ВЕРХ, хроматограма визначення флавоноїдів

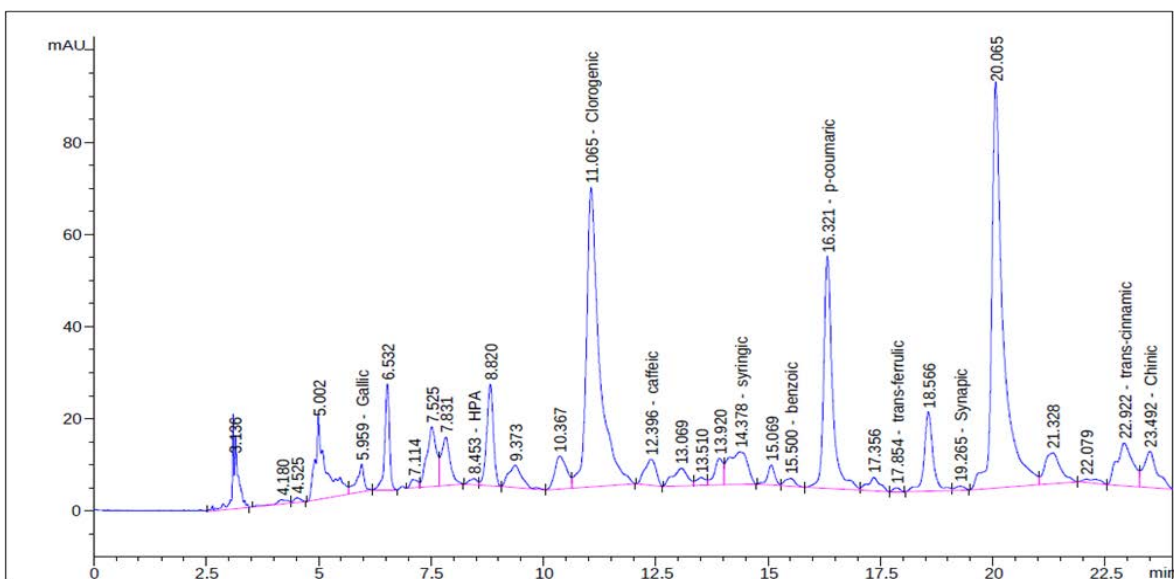


Рис. 2. Хроматограма ВЕРХ визначення кислот гідроксикоричних

Серед гідроксикоричних кислот найбільший вміст становила хлорогенова кислота (7 992,58 мкг/г) (табл. 2).

Вміст сполук фенольного характеру (кислот гідроксикоричних і флавоноїдів) із сировини рудбекії лікарської може проявляти протизапальну, антимікробну та противірусну дію.

Отримані нами результати створюють основу для подальшого фітохімічного дослідження та можуть бути використані для стандартизації трави рудбекії волосистої.

ВИСНОВКИ. 1. У літературних джерелах налічується значна кількість повідомлень щодо застосування рудбекії волосистої в медичній практиці з лікувальною і профілактичною метою за різних показань. Сполуки фенольної природи, які наявні в рослині, передбачають широкі перспективи щодо практичного застосування препаратів на основі *Rudbeckia hirta* L. у медицині.

2. Проведено визначення індивідуальних компонентів сполук фенольної природи

(флавоноїдів та кислот гідроксикоричних) у траві досліджуваного об'єкта методом аналізу ВЕРХ. Установлено, що серед індивідуальних сполук флавоноїдів найбільший вміст становили фізетин (2 381,39 мкг/г) і рутин (1 308,96 мкг/г). Серед гідроксикоричних

кислот найбільший вміст становила хлорогенова кислота (7 992,58 мкг/г).

3. Отримані нами результати свідчать про перспективність подальших поглиблених фітохімічних досліджень біологічно активних речовин рудбекиї волосистої.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Barker J. The encyclopedia of North American wild flowers. Bath : Parragon, 2004.
2. Branhagen A. Native Plants of the Midwest: A Comprehensive Guide to the Best 500 Species for the Garden. Portland, OR, USA : Timber Press, 2016.
3. Quattrocchi U. CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants. Boca Raton, FL, USA : CRC Press, 2012.
4. Antimycobacterial eudesmanolides from *Inula helenium* and *Rudbeckia subtomentosa* / C. Cantrell et al. *Planta Medica*. 1999. Vol. 65. P. 351–355.
5. Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants / A. Ebringerová et al. *Fitoterapia*. 2003. Vol. 74. P. 52–61.

6. A new highly oxygenated pseudoguaianolide with 5-LOX inhibitory activity from *Rudbeckia hirta* L. flowers / B. R. Michael et al. *Natural Product Research*. 2013. Vol. 27. P. 2281–2285.
7. The Genus *Rudbeckia*: A critical review of its traditional medicinal uses, phytochemistry, and pharmacology / E. Vardeman et al. *Journal of Herbal Medicine*. 2022. Vol. 31. Article ID: 100530. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2022.100530>.
8. Pyrzynska K., Sentkowska A. Chromatographic Analysis of Polyphenols. *Polyphenols in Plants*. Academic Press, 2019. P. 353–364.
9. Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum* L.) / B. R. Sumere et al. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2018. Vol. 48. P. 151–162.

REFERENCES

1. Barker, J. (2004). *The encyclopedia of North American wild flowers*. Bath, Parragon.
2. Branhagen, A. (2016). *Native Plants of the Midwest: A Comprehensive Guide to the Best 500 Species for the Garden*. Portland, OR, USA: Timber Press.
3. Quattrocchi, U. (2012). *CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. ISBN 978-1-4200-8044-5.
4. Cantrell, C., Abate, L., Fronezek, F., Franzblau, S., Quijano, L., & Fischer, N. (1999). Antimycobacterial eudesmanolides from *Inula helenium* and *Rudbeckia subtomentosa*. *Planta Medica*, 65 (4), 351–355.
5. Ebringerová, A., Kardošová, A., Hromádková, Z., & Hřnbalová, V. (2003). Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia*, 74 (1), 52–61.

6. Michael, B. R., Gedara, S. R., Amer, M. M. A., Stevenson, L., & Ahmed, A. F. (2013). A new highly oxygenated pseudoguaianolide with 5-LOX inhibitory activity from *Rudbeckia hirta* L. flowers. *Natural Product Research*, 27 (23), 2281–2285.
7. Vardeman, E., Lyles, J. T., & Quave, C. L. (2022). The genus *Rudbeckia*: A critical review of its traditional medicinal uses, phytochemistry, and pharmacology. *Journal of Herbal Medicine*, 31, Article 100530. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2022.100530>.
8. Pyrzynska, K., & Sentkowska, A. (2019). Chromatographic analysis of polyphenols. In *Polyphenols in Plants*, 353–364.
9. Sumere, B. R., de Souza, M. C., Dos Santos, M. P., Bezerra, R. M. N., da Cunha, D. T., Martinez, J., & Rostagno, M. A. (2018). Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum* L.). *Ultrasonics sonochemistry*, 48, 151–162.

Адреса для листування: Р. Ю. Басараба, Буковинський державний медичний університет, Театральна площа, 2, Чернівці, 58000, Україна, e-mail: roksgm09@gmail.com.

L. V. Komaniuk, R. Yu. Basaraba
BUKOVINIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

INVESTIGATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE RAW MATERIAL OF *RUDBECKIA HIRTA* L.

Summary

Introduction. *Rudbeckia hirta* L. is an herbaceous plant of the Asteraceae family, traditionally used for the treatment of inflammatory diseases such as colds, ulcers, and snake bites. *Rudbeckia hirta* L. is utilized in traditional medicine in certain regions of North America. Extracts from the roots of *Rudbeckia hirta* L. are used for the treatment of gynecological diseases and sexually transmitted infections. Polysaccharides contained in *Rudbeckia hirta* L. exhibit immunomodulatory properties.

The aim of the study – to determine the individual components of flavonoids and hydroxycinnamic acids in the herb of *Rudbeckia hirta* L. using the high-performance liquid chromatography (HPLC) method.

Research Methods. The material for the study was the herb of *Rudbeckia hirta* L., harvested in the territory of the Chernivtsi region. Individual components of flavonoids and hydroxycinnamic acids were determined using the HPLC method on an Agilent Technologies 1200 liquid chromatograph.

Results and Discussion. Using the HPLC method, eight individual components of flavonoids were identified, including rutin (1 308,96 µg/mg), isoquercetin (97,68 µg/mg), astragalin (43,93 µg/mg), naringin (673,82 µg/mg), fisetin (2 381,39 µg/mg), quercetin (800,9 µg/mg), apigenin (307,95 µg/mg), and baicalein (562,72 µg/mg). Among the individual components of hydroxycinnamic acids, the presence and quantitative content were determined for chlorogenic acid (7 992,58 µg/mg), p-coumaric acid (763,85 µg/mg), caffeic acid (191,45 µg/mg), syringic acid (210,95 µg/mg), trans-cinnamic acid (93,47 µg/mg), quinic acid (85,35 µg/mg), sinapic acid (15,11 µg/mg), and trans-ferulic acid (12,63 µg/mg).

Conclusions. Individual components of phenolic compounds in the herb of *Rudbeckia hirta* L. were identified using the HPLC method. It was established that among the flavonoid components, fisetin (2 381,39 µg/mg) and rutin (1 308,96 µg/mg) had the highest content. Among the hydroxycinnamic acids, chlorogenic acid (7 992,58 µg/mg) had the highest content. The obtained results indicate the potential for further in-depth phytochemical studies of the biologically active substances in the herb of *Rudbeckia hirta* L.

KEY WORDS: black-eyed Susan; *Rudbeckia hirta* L.; hydroxycinnamic acids; flavonoids; HPLC.