

С. М. Марчишин¹, О. Л. Демидяк¹, О. В. Полонець², М. С. Гарник²
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО¹
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ М. І. ПИРОГОВА²

ДОСЛІДЖЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ХРИЗАНТЕМИ САДОВОЇ БАГАТОРІЧНОЇ (*CHRYSANTHEMUM* × *HORTORUM BAILEY*)

У сировині хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum* × *hortorum Bailey*) сорту *Belgo* спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст речовин фенольної природи: гідроксикоричних кислот – 9,08 % у листках і 7,61 % у квітках, флавоноїдів – 3,30 і 4,29 % та суми фенольних сполук – 5,82 і 4,42 % відповідно. Методом ВЕРХ ідентифіковано індивідуальні сполуки – флавоноїди (рутин, апігенін, лютеолін, кверцетин-3-*D*-глюкозид, кемпферол), кумарини (скополетин, кумарин), гідроксикоричні кислоти (розмаринова, хлорогенова, кофейна, ферулова), встановлено їх кількісний вміст.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хризантема садова багаторічна сорту *Belgo*, фенольні сполуки, спектрофотометрія, високоефективна рідинна хроматографія.

ВСТУП. Характерною особливістю представників рослинного світу є їх здатність до синтезу та накопичення сполук фенольної природи. Вони поєднують у собі низьку токсичність з високою фармакологічною активністю, тому знайшли широке використання в медичній практиці як засоби для лікування захворювань серцево-судинної та сечовивідної систем, шлунково-кишкового тракту тощо [2, 5, 8].

Дані джерел літератури [4, 10] свідчать про те, що поліфенольні сполуки здатні підтримувати кисневу забезпеченість тканин на оптимальному рівні та запобігають негативному впливу факторів зовнішнього середовища. Відомо, що серед природних фенолів флавоноїди за кількісним вмістом переважають у надземних частинах рослинної сировини та мають широкий спектр фармакологічної активності: антиоксидантна, протизапальна, протимікробна, противірусна, сечогінна, жовчогінна [2, 5, 6, 8]. Їх біологічна активність посилюється низькою концентрацією кумаринів, які, крім того, проявляють Р-вітамінну, спазмолітичну, протимікробну та тромболітичну дію [5, 8]. Виражені антиоксидантні та антирадикальні властивості проявляють також гідрокси-

коричні кислоти, описано їх імуностимулювальну, противірусну, протимікробну, протизапальну, гепатопротекторну та жовчогінну дію [1, 3].

Враховуючи те, що одним із джерел одержання біологічно активних речовин є рослини, які широко використовують у народній медицині, актуальним є визначення якісного складу і кількісного вмісту фенольних сполук (флавоноїдів, кумаринів та гідроксикоричних кислот) у листках і квітках хризантеми садової багаторічної для прогнозування фармакологічної дії та створення на основі її біологічно активних речовин нових лікарських засобів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктами для дослідження були квітки та листки хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo*, які заготовляли під час масового цвітіння рослин у 2015 р. на дослідних ділянках Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка. Попередньо провели якісне виявлення флавоноїдів у витяжках із досліджуваної сировини за допомогою ціаніднової реакції, кумаринів – лактонної проби, гідроксикоричних кислот – з розчином ферум (III) хлориду [1, 6].

Кількісне визначення суми фенольних сполук у сировині хризантеми садової багаторічної в

© С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, О. В. Полонець, М. С. Гарник, 2016.

перерахунку на галову кислоту проводили спектрофотометричним методом при довжині хвилі 270 нм, суми гідроксикоричних кислот – у перерахунку на хлорогенову кислоту при довжині хвилі 327 нм, суми флавоноїдів – у перерахунку на рутин при довжині хвилі 410 нм. Оптичну густину розчинів вимірювали на спектрофотометрі Cary 50 [2, 6].

Для розділення суми фенольних сполук на окремі компоненти використовували метод ВЕРХ на хроматографі Agilent 1200 3 D LC System Technologies (США), який укомплектований проточним вакуумним дегазатором G1322A, чотиріканальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автосамплером (автоматичний інжектор) G1329A, термостатом колонок G1316A, детекторами діодноматричним G1315C та рефрактометричним G1362A.

Аналіз гідроксикоричних кислот, кумаринів та флавоноїдів здійснювали обернено-фазною хроматографією з використанням хроматографічної колонки SupelcoDiscovery C₁₈ розміром 250×4,6 мм із сорбентом: силікагель, модифікований октадецильними групами, має діаметр зерен 5 мкм. Як рухомих фаз використовували сольвент А – 0,005 N ортофосфорну кислоту і сольвент В – ацетонітрил. Час сканування – 0,6 с, діапазон детектування – 190–400 нм, довжина хвилі – 320, 330 нм (для гідроксикоричних кислот і скополетину) та 255, 340 нм (для флавоноїдів і кумарину).

Пробопідготовку проводили таким чином: зважували подрібнену ЛРС масою 1,00 г (точна наважка), поміщали в круглодонну колбу об'ємом 100 мл, екстрагували 50 мл 60 % метанолом на киплячій водяній бані зі зворотним холодильником при перемішуванні протягом 15 хв. Після цього пробу обробляли ультразвуком протягом

10 хв, фільтрували, кількісно переносили в колбу на 100 мл і доводили до мітки розчинником (60 % метанолом). Перед хроматографуванням фільтрували через фільтр одноразового використання з діаметром пор 0,45 мкм.

Речовини ідентифікували за часом утримання, їх кількісний вміст визначали, обчислюючи площу піків на хроматограмах [6, 7, 9].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У таблиці 1 наведено результати визначення кількісного вмісту фенольних сполук у сировині хризантеми садової багаторічної.

Як видно з результатів, наведених у таблиці 1, вміст суми фенольних сполук у листках і квітках хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* складав (5,82±0,01) та (4,42±0,01) % відповідно. Кількісний вміст суми флавоноїдів у сировині хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* становив (3,30±0,01) % у листках та (4,29±0,01) % у квітках. Сума гідроксикоричних кислот складала (9,08±0,01) і (7,61±0,01) %, відповідно, у листках та квітках.

Методом ВЕРХ було виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст індивідуальних фенольних сполук у сировині хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* (рис. 1–8). У досліджуваних об'єктах ідентифіковано аглікони флавоноїдів (апігенін, лютеолін та кемпферол) і глікозиди флавоноїдів (рутин та кверцетин-3-D-глюкозид). Також ідентифіковано кумарини (кумарин, скополетин) і гідроксикоричні кислоти (хлорогенову, розмаринову, ферулову та кофейну).

Аналіз результатів ВЕРХ свідчить про те, що серед сполук флавоноїдної природи переважає кверцетин-3-D-глюкозид (ізокверцитрин) у квітках хризантеми (0,46 %). Значний вміст хлоро-

Таблиця 1 – Кількісний вміст суми фенольних сполук у сировині хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum x hortorum Bailey*) сорту *Belgo*

Фенольна сполука	Вміст БАР, %	
	листки	квітки
Сума фенольних сполук	5,824±0,01	4,419±0,01
Сума флавоноїдів	3,302±0,01	4,294±0,01
Сума гідроксикоричних кислот	9,078±0,01	7,614±0,01

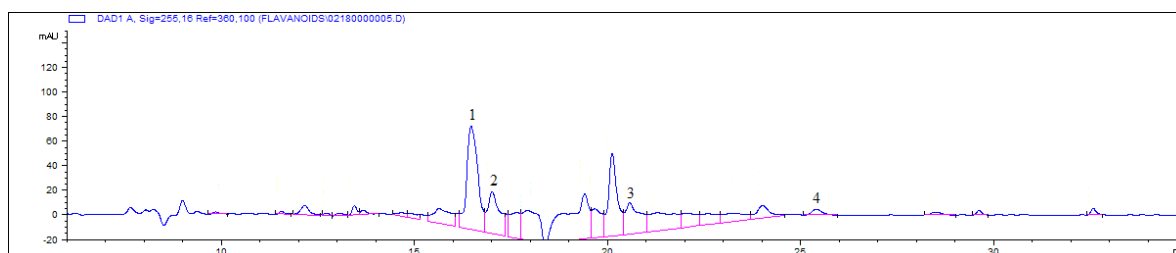


Рис. 1. Хроматограма флавоноїдів та кумаринів квіток хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* (λ=255 нм): 1 – кумарин; 2 – рутин; 3 – лютеолін; 4 – кверцетин-3-D-глюкозид.

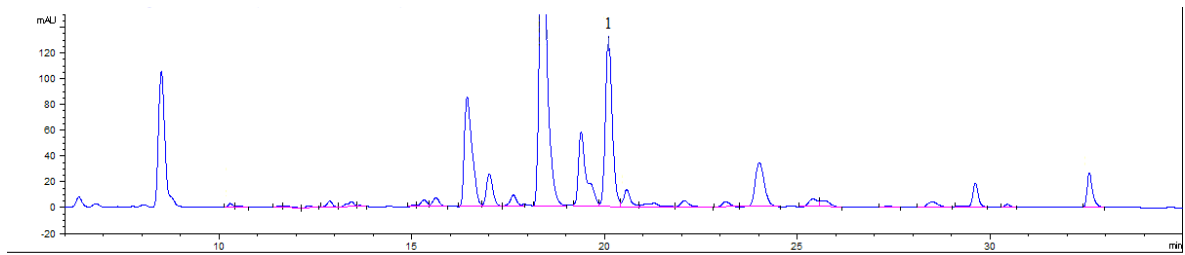


Рис. 2. Хроматограма кумаринів квіток хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* ($\lambda=340$ нм): 1 – скополетин.

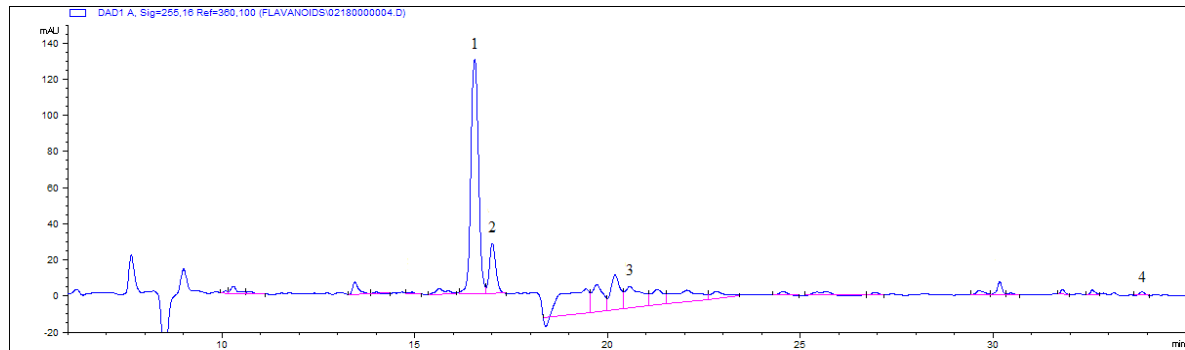


Рис. 3. Хроматограма флавоноїдів та кумаринів листків хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* ($\lambda=255$ нм): 1 – кумарин; 2 – рутин; 3 – лютеолін; 4 – кемпферол.

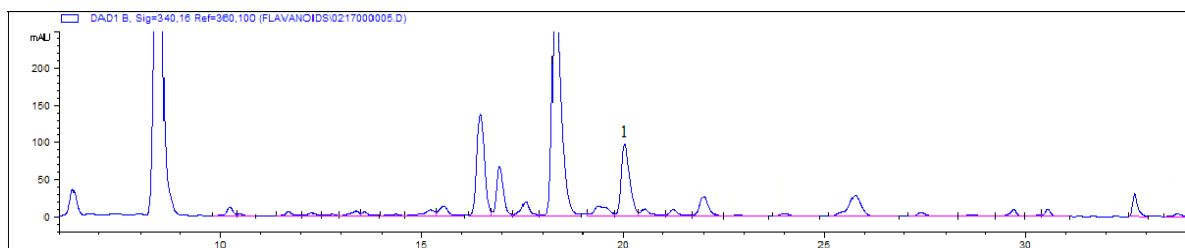


Рис. 4. Хроматограма кумаринів листків хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* ($\lambda=340$ нм): 1 – скополетин.

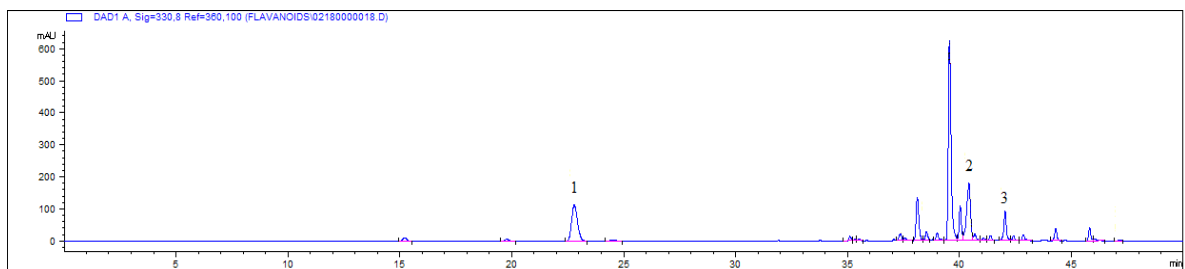


Рис. 5. Хроматограма флавоноїдів та гідроксикоричних кислот квіток хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* ($\lambda=330$ нм): 1 – хлорогенова кислота; 2 – розмаринова кислота; 3 – апігенін.

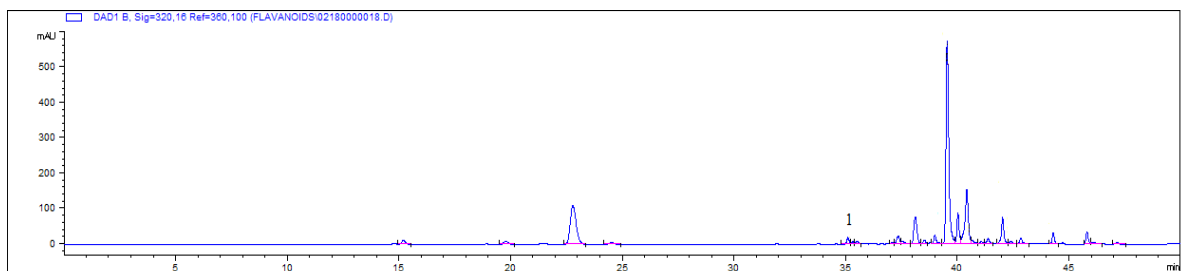


Рис. 6. Хроматограма гідроксикоричних кислот квіток хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* ($\lambda=320$ нм): 1 – ферулова кислота.

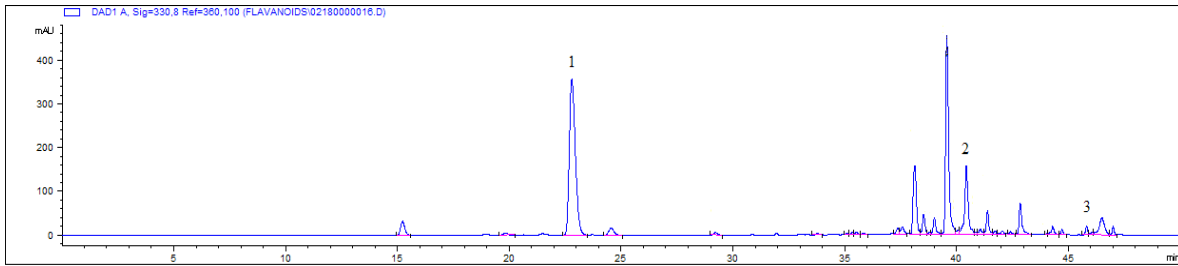


Рис. 7. Хроматограма флавоноїдів та гідроксикоричних кислот листків хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* ($\lambda=330$ nm): 1 – хлорогенова кислота; 2 – розмаринова кислота; 3 – апігенін.

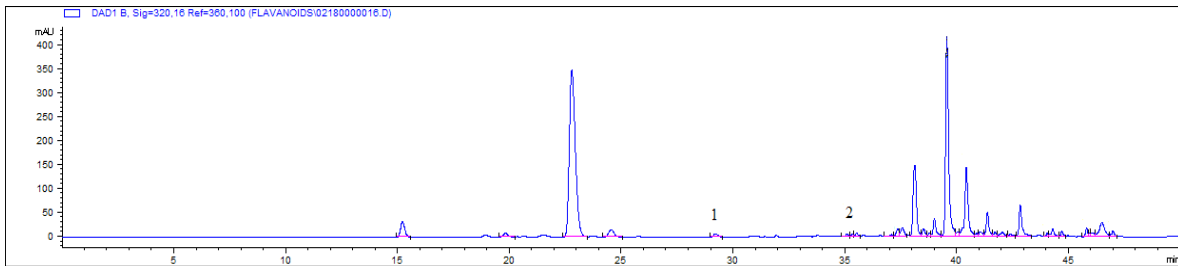


Рис. 8. Хроматограма гідроксикоричних кислот листків хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* ($\lambda=320$ nm): 1 – кофейна кислота; 2 – ферулова кислота.

генової кислоти спостерігають у листках хризантеми – 2,54 %; вміст розмаринової кислоти вищий у квітках та листках – 0,95 і 0,77 % відповідно. У досліджуваних об'єктах виявлено значний вміст кумарину: 0,96 % у листках та 0,64 % у квітках (табл. 2).

Таблиця 2 – Вміст фенольних сполук у сировині хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum Bailey*) сорту *Belgo*

Речовина	Вміст, %	
	листки	квітки
Кумарин	0,96	0,64
Скополетин	0,27	0,46
Рутин	0,30	0,21
Лютеолін	0,09	0,11
Кверцетин-3-D-глюкозид	–	0,46
Кемпферол	0,01	–
Апігенін	0,09	0,37
Хлорогенова кислота	2,54	0,81
Розмаринова кислота	0,77	0,95
Ферулова кислота	1,02	0,03
Кофейна кислота	0,02	–

ВИСНОВКИ. Уперше досліджено якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук у листках і квітках хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum Bailey*) сорту *Belgo*.

Методом ВЕРХ ідентифіковано та встановлено кількісний вміст таких індивідуальних сполук фенольної природи: кумарину, скополетину, рутину, лютеоліну, кверцетин-3-D-глюкозиду, кемпферолу, апігеніну, хлорогенової, розмаринової, кофейної та ферулової кислот.

Методом високоефективної хроматографії встановлено, що в листках хризантеми садової

багаторічної сорту *Belgo* переважають гідроксикоричні кислоти (хлорогенова – 2,54 %, ферулова – 1,02 %); у квітках за кількісним вмістом переважають флавоноїди (кверцетин-3-D-глюкозид – 0,46 %, апігенін – 0,37 %); кумарини у значній кількості містяться в обох видах сировини.

Отримані результати свідчать про перспективність подальшого фітохімічного та фармакологічного дослідження сировини хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum Bailey*) сорту *Belgo*.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гончаров Н. Ф. Гидроксикоричные кислоты цветков и листьев нефармакопейных видов рода Боярышник / Н. Ф. Гончаров, И. В. Михайлов, Н. Н. Гончаров // *Фундаментал. исследования.* – 2011. – № 9, ч. 1. – С. 146–148.
2. Гарник М. С. Дослідження фенольних сполук розхідника звичайного (*Glechoma hederacea* L.) / М. С. Гарник // *Фармац. часоп.* – 2015. – № 3. – С. 14–18.
3. Влияние способа получения экстракционных препаратов из травы эхинацеи пурпурной на состав гидроксикоричных кислот [Электронный ресурс] / Ю. О. Денисенко, И. Н. Андреева, О. Н. Денисенко [и др.] // *Совр. пробл. науки и образования.* – 2011. – № 6. – Режим доступа к журн. : [www.science-education.ru/100].
4. Кисличенко В. С. Флавоноиды листьев *Pyrus communis*, *Malus sylvestris* и *Malus domestica* / В. С. Кисличенко, Е. Н. Новосел // *Химия природных соединений.* – 2007. – № 6. – С. 584–585.
5. Кобзар А. Я. Фармакогнозія в медицині / А. Я. Кобзар. – К. : Медицина, 2007. – 544 с.
6. Марчишин С. М. Дослідження флавоноїдів надземних органів лілійника буро-жовтого (*Heimerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Heimerocallis hybrida* var. "Stella De Oro") / С. М. Марчишин, О. В. Зарічанська, М. С. Гарник // *Фітотерапія. Часопис.* – 2015. – № 3. – С. 52–55.
7. Медведев Ю. В. Исследование содержания фенолокислот в лекарственном и пищевом растительном сырье методом ВЭЖХ : автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. фармац. наук / Ю. В. Медведев ; ГОУ ВПО Московская медицинская академия имени И. М. Сеченова. – М., 2010. – 24 с.
8. Чекман І. С. Клінічна фітотерапія / І. С. Чекман. – К. : ТОВ "РАДА", 2006. – С. 150.
9. Bharatmi Avula. Quantitative determination of phenolic compounds by UHPLC-UV-MS and use of partial least-square discriminant analysis to differentiate chemo-types of Chamomile / *Chrysanthemum* flower heads / Avula Bharatmi, Yan-Hong Wang, Mei Wang, Christine Avonto [et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* – 2014. – № 88. – P. 278-288.
10. Wang Tao. Variation in major flavonoids glycosides and caffeoylquinic acids during florescence of three *Chrysanthemum morifolium* Ramat cv. «Hangju» genotypes / Tao Wang, Zaibio Zhu, Qiaosheng Guo [et al.] // *Biochemical Systems and Ecology.* – 2013. – № 43. – P. 74–79.

С. М. Марчишин¹, О. Л. Демидяк¹, О. В. Полонец², М. С. Гарник²

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО¹
ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. И. ПИРОГОВА²

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ХРИЗАНТЕМЫ САДОВОЙ МНОГОЛЕТНЕЙ (*CHRYSANTHEMUM* × *HORTORUM BAILEY*)

Резюме

В сырье хризантемы садовой многолетней (*Chrysanthemum* × *hortorum Bailey*) сорта *Belgo* спектрофотометрическим методом установлено количественное содержание веществ фенольного происхождения: гидроксикоричных кислот – 9,08 % в листьях и 7,61 % в цветках, флавоноидов – 3,30 и 4,29 % и суммы окислительных фенолов – 5,82 и 4,42 % соответственно. Методом ВЭЖХ идентифицировано индивидуальные соединения – флавоноиды (рутин, апигенин, лютеолин, кверцетин, кверцетин-3-*D*-глюкозид, кемпферол), кумарины (скополетин, кумарин), гидроксикоричные кислоты (розмариновая, хлорогеновая, кофейная, феруловая), установлено их количественное содержание.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хризантема садовая многолетняя сорта *Belgo*, фенольные соединения, спектрофотометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография.

S. M. Marchyshyn¹, O. L. Demydiak¹, O. V. Polonets², M. S. Harnyk²
I. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY¹
M. PYROHOV VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY²

THE INVESTIGATION OF COMPOUNDS OF PHENOL ORIGIN IN PERENNIAL GARDEN CHRISANTHEMUM (CHRYSANTHEMUM × HORTORUM BAILEY)

Summary

Compounds of phenol origin have been spectrophotometrically quantified in perennial garden chrysanthemum (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey) of variant *Belgo* raw material, they are hydroxycinnamic acids 9.08 % in leaves and 7.61 % flower heads, flavonoids – 3.30 % and 4.29 %, oxidized phenols– 5.82 % and 4.42 % respectively. Flavonoid groups (rutin, apigenine, luteolin, quercitrin-3-D- glycoside kaempferol), coumarines (scopoletin, coumarine) hydroxycinnamic acids (rosemary, chlorogenic, caffeic, ferulic) have been identified by the method of HPLC and their content has been determined.

KEY WORDS: perennial garden chrysanthemum of variant *Belgo*, compounds of phenol origin, spectrophotometry, high performance liquid chromatography.

Отримано 26.04.16

Адреса для листування: С. М. Марчишин, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.