

**ВИВЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ РЕЧОВИН
МЕТОДОМ ВЕРХ У СИРОВИНІ ЛІХНІСУ
КОРОНЧАТОГО (*LYCHNIS CORONARIA* (L.)
MURRAY EX DESR.)**

Поліщук Ю.М., Бурда Н.Є.

**Кафедра хімії природних сполук і нутриціології
Національного фармацевтичного університету
e-mail: cnc@nuph.edu.ua**

Вступ. Фенольні речовини – сполуки, які проявляють різнопланову фармакологічну активність, зокрема антиоксидантну, протизапальну, антибактеріальну, протиракову, кардіопротекторну активність, зміцнюють імунну систему тощо [1-2]. Тому проведення вивчення цих сполук у хімічному складі рослин є доцільним напрямком фітохімічних досліджень.

Нами розпочато вивчення хімічного складу ліхнісу корончатого (*Lychnis coronaria* (L.) Murray ex Desr.) – багаторічної трав'янистої декоративної рослини, яка відноситься до родини Гвоздиківі (Caryophyllaceae) [3]. Закордонними вченими також проводяться дослідження, присвячені вивченню хімічного складу рослини, а також встановленню фармакологічної активності. Для сировини ліхнісу корончатого визначені протизапальна, протигемороїдальна, антигепатотоксична дія, а також показані перспективи використання даної рослини у лікуванні бронхіальної астми [3-5]. Оскільки фенольні сполуки можуть брати участь у розвитку наведених фармакологічних активностей, то актуальним було провести їх вивчення із застосуванням сучасним методів аналізу.

Крім того, хімічний склад ліхнісу корончатого, у порівнянні з іншими представниками родини Гвоздиківі, на сьогодні недостатньо досліджений і потребує деталізації [6].

Метою роботи було вивчення фенольних речовин методом ВЕРХ у сировині ліхнісу корончатого.

Матеріали та методи. Для дослідження використовували траву, листя, квітки та стебла ліхнісу корончатого, які були заготовлені у фазі цвітіння в Харківській області (Україна) у липні - серпні 2021/2022 р.

Фенольні речовини із сировини ліхнісу корончатого екстрагували за такою технологією: 0,500 г подрібненої сировини вносили в конічну колбу місткістю 100 мл, обладнану зворотним холодильником, додавали 25 мл 70 % етанолу та нагрівали на водяній бані протягом 45 хв. Після цього одержаний розчин охолоджували до кімнатної температури та фільтрували через фільтр «червона

стрічка» в мірну колбу місткістю 25,0 мл. Об'єм розчину доводили до об'єму 25,0 мл 70 % етанолом.

Хроматографічне вивчення проводили на рідинному хроматографі, який був обладнаний діодноматричним детектором Shimadzu HPLC-system, ser.20.

Дотримувалися таких умов хроматографування: колонка Phenomenex Luna C18, розміром 250 мм x 4,6 мм, розмір частинок 5 мкм; температура колонки – 35°C; довжина хвилі детектування – 330 нм; швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; об'єм проби, що вводився – 5 мкл; Елюент А: 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти у воді; Елюент Б: 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі. рухома фаза:

Час хроматографування (хв)	Елюент А, %	Елюент Б, %
0–25	85 → 35	15 → 65
25–30	35 → 0	65 → 100
30–31	0 → 85	100 → 15

Таблиця 1. Час утримування ідентифікованих речовин

Ідентифікована речовина	Час утримування
Флавоноїди (мг/кг)	
Гесперидин	9,42±0,05
Ізокверцитрин	16,10±0,04
Ізоскопарин	19,15±0,07
Апігенін-7-глюкозид	19,58±0,08
Орієнтин	21,51±0,13
Вітексин	24,27±0,21
Трицин-7-О-глюкозид	26,26±0,10
Рутин	31,13±0,13
Лютеолін	46,84±0,17
Кверцетин	47,11±0,14
Апігенін	52,15±0,19
Кемпферол	53,09±0,15
Фенольні кислоти (мг/кг)	
Хлорогенова кислота	20,03±0,09
Протокатехова кислота	21,04±0,17
Кофейна кислота	22,18±0,04
Розмаринова кислота	37,89±0,11
Ферулова кислота	46,10±0,23
Ванілінова кислота	49,41±0,22
Бузкова кислота	56,57±0,18
n-Кумарова кислота	64,47±0,27

Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та відповідності УФ-спектрів речовині-стандарту [7-8].

Результати та обговорення. Час утримування ідентифікованих речовин у сировині ліхнісу

корончатого наведено у табл. 1. Результати проведеного аналізу щодо ідентифікації та визначення кількісного вмісту фенольних сполук у сировині ліхнісу корончатого наведені у табл. 2-5.

Таблиця 2. Результати визначення фенольних сполук у траві ліхнісу корончатого

<i>Ідентифікована речовина</i>	<i>Результати випробувань</i>	<i>Розширена невизначеність</i>
Флавоноїди (мг/кг)		
Кверцетин	641,63	31,44
Рутин	556,69	27,98
Апігенін	312,62	11,82
Кемпферол	306,08	12,90
Лютеолін	211,32	9,13
Трицин-7-О-глюкозид	162,86	12,09
Апігенін-7-глюкозид	40,13	3,89
Вітексин	27,24	1,56
Орієнтин	17,93	0,78
Гесперидин	12,27	0,45
Ізоскопарин	8,02	0,76
Ізокверцитрин	5,45	0,42
Фенольні кислоти (мг/кг)		
Хлорогенова кислота	541,23	14,12
Кофейна кислота	467,14	10,56
Ферулова кислота	282,77	5,78
Розмаринова кислота	151,37	11,67
Протокатехова кислота	113,53	11,92
Бузкова кислота	88,90	4,86
Ванілінова кислота	67,38	7,18
<i>n</i> -Кумарова кислота	59,94	3,78

Як видно з табл. 2, у траві ліхнісу корончатого ідентифіковано 12 флавоноїдів та 8 фенольних кислот. Серед флавоноїдів у даній сировині домінували кверцетин (641,63 мг/кг) та рутин (556,69 мг/кг); серед фенольних кислот – хлорогенова (51,23 мг/кг) та кофейна (467,14 мг/кг)

кислота. Крім того, слід зазначити, що в достатньо високій кількості містилися такі сполуки як апігенін, кемпферол, лютеолін, ферулова та розмаринова кислота. У невеликій кількості у досліджуваній сировині визначено ізоскопарин та ізокверцитрин – 8,02 мг/кг та 5,45 мг/кг відповідно.

Таблиця 3. Результати визначення фенольних сполук у листі ліхнісу корончатого

<i>Ідентифікована речовина</i>	<i>Результати випробувань</i>	<i>Розширена невизначеність</i>
Флавоноїди (мг/кг)		
Рутин	663,31	32,18
Кверцетин	576,79	30,44
Кемпферол	504,61	29,11
Апігенін	459,85	14,20
Лютеолін	326,42	11,65
Гесперидин	64,00	7,45
Трицин-7-О-глюкозид	28,90	2,56
Вітексин	18,71	1,16

Ізоскопарин	18,61	1,25
Орієнтин	7,63	0,68
Фенольні кислоти (мг/кг)		
Хлорогенова кислота	413,37	31,47
Кофейна кислота	234,61	8,54
Ферулова кислота	178,45	16,56
Розмаринова кислота	94,23	6,36
Бузкова кислота	72,15	4,12
Протокатехова кислота	58,20	4,30
Ванілінова кислота	29,73	2,11
<i>n</i> -Кумарова кислота	25,23	1,20

У результаті проведених досліджень у листі ліхнісу корончатого ідентифіковано 18 сполук фенольної природи, серед яких 10 – флавоноїди, 8 –

фенольні кислоти. Домінуючими речовинами були рутин, кверцетин, кемпферол, апігенін, лютеолін, хлорогенова, кофейна та ферулова кислота. Стосовно речовин, які містилися у листі ліхнісу корончатого у незначній кількості, то це був орієнтин (7,63 мг/кг).

Таблиця 4. Результати визначення фенольних сполук у квітках ліхнісу корончатого

<i>Ідентифікована речовина</i>	<i>Результати випробувань</i>	<i>Розширена невизначеність</i>
Флавоноїди (мг/кг)		
Апігенін	527,71	38,44
Кверцетин	432,34	16,25
Рутин	381,90	27,11
Лютеолін	284,50	4,78
Кемпферол	227,35	5,60
Апігенін-7-глюкозид	106,19	8,16
Трицин-7-О-глюкозид	78,52	3,65
Орієнтин	15,48	1,45
Ізоскопарин	11,40	0,98
Ізокверцитрин	9,31	0,67
Вітексин	7,17	0,78
Фенольні кислоти (мг/кг)		
Кофейна кислота	209,96	4,11
Ферулова кислота	193,34	11,24
Хлорогенова кислота	109,58	8,78
Протокатехова кислота	87,32	4,07
Розмаринова кислота	84,75	3,56
<i>n</i> -Кумарова кислота	68,78	2,90
Ванілінова кислота	44,52	3,30
Бузкова кислота	30,52	2,07

У результаті експерименту у квітках ліхнісу корончатого ідентифіковано 11 флавоноїдів та 8 фенольних кислот. Слід зазначити, що, як і у випадку трави та листя, спостерігався найвищий вміст апігеніну, кверцетину, рутину, кемпферолу, лютеоліну, кофейної, ферулової та хлорогенової

кислоти. Однак, на відміну від попередніх двох видів сировини, у квітках серед флавоноїдів домінував апігенін (527,71 мг/кг), у траві був кверцетин, у листі – рутин; серед фенольних кислот у квітках превалювала кофейна кислота (209,96 мг/кг), а у траві та листі – хлорогенова кислота. У невеликій

кількості визначено ізокверцитрин (9,31 мг/кг) та вітексин (7,17 мг/кг).

Таблиця 5. Результати визначення фенольних сполук у стеблах ліхнісу корончатого

<i>Ідентифікована речовина</i>	<i>Результати випробувань</i>	<i>Розширена невизначеність</i>
Флавоноїди (мг/кг)		
Кверцетин	259,71	8,12
Лютеолін	75,11	3,44
Трицин-7-О-глюкозид	65,32	4,80
Апігенін-7-глюкозид	25,66	3,67
Кемпферол	14,27	1,07
Ізоскопарин	4,79	0,23
Фенольні кислоти (мг/кг)		
Кофейна кислота	88,47	5,12
Хлорогенова кислота	74,75	3,69
Ферулова кислота	47,81	2,13
Бузкова кислота	17,37	0,67
<i>n</i> -Кумарова кислота	11,41	0,98

У стеблах досліджуваної рослини було визначено 6 флавоноїдів та 5 фенольних кислот. У превалуючій кількості накопичувалися такі сполуки: кверцетин (259,71 мг/кг) та кофейна кислота (88,47 мг/кг). Ізоскопарин містився у стеблах у незначній кількості (4,79 мг/кг).

Таким чином, встановлено, що найбільше ідентифікованих фенольних сполук було у траві, листі та квітках ліхнісу корончатого. Крім того, кількісний вміст визначених речовин був вищий у вищезазначених видах сировини, найменша їх кількість спостерігалася у стеблах досліджуваної рослини.

Висновки. Отже, проведені дослідження вказують на накопичення фенольних сполук, а саме флавоноїдів та фенольних кислот, у різних частинах ліхнісу корончатого. Отримані результати можуть використовуватися для вибору перспективної сировини ліхнісу корончатого, а також показують доцільність проведення подальших фітохімічних досліджень.

Study of phenolic compounds in *Lychnis coronaria* raw materials by HPLC

Polishchuk Yu, Burda N.

Introduction. Phenolic substances are compounds that exhibit diverse pharmacological activity, including antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, anticancer, cardioprotective activity, strengthen the immune system, etc. Therefore, the study of these compounds in the chemical composition of plants is an appropriate direction of phytochemical research. We have started studying the chemical composition of *Lychnis coronaria*

(L.) Murray ex Desr. - a perennial herbaceous ornamental plant (Caryophyllaceae family). Foreign scientists are also conducting research devoted to the study of the chemical composition of the plant, as well as the establishment of pharmacological activity. Anti-inflammatory, anti-hemorrhoidal, anti-hepatotoxic effects have been determined for the raw material of *Lychnis coronaria*, as well as the prospects of using this plant in the treatment of bronchial asthma have been shown. Since phenolic compounds can participate in the development of the above pharmacological activities, it was important to study them using modern methods of analysis. In addition, the chemical composition of *Lychnis coronaria*, in comparison with other representatives of Caryophyllaceae family, is currently insufficiently researched and needs to be detailed. The aim of the work was the study of phenolic substances by HPLC in the raw material of *Lychnis coronaria*.

Materials and methods. The research used herb, leaves, flowers, and stems of *Lychnis coronaria*, which were harvested in the flowering phase in the Kharkiv region (Ukraine) in July - August 2021/2022. To remove phenolic compounds, the raw material was extracted as follows: 0.500 g of crushed raw material was placed in a 100 ml conical flask equipped with a reflux condenser, 25 ml of 70% ethanol was added and heated in a water bath for 45 minutes. The resulting solution was then cooled to room temperature and filtered through a red tape filter into a 25.0 ml volumetric flask. The volume of the solution was adjusted to 25.0 ml with 70% ethanol. The chromatographic study of tested herb specimens was performed at a Shimadzu HPLC-system, ser.20 liquid chromatograph equipped with a diode matrix detector under the following conditions: Phenomenex Luna C18

column, dimensions: 250 mm x 4,6 mm, particle size 5 µm; column temperature 35°C; detector wavelength 330 nm; mobile phase flow rate 1 ml/min; introduced sample volume 5 µl. The components were identified by their retention time and conformity of their UV spectra to standard substance. **Research results.** 12 flavonoids and 8 phenolic acids have been identified in the *Lychnis coronaria* herb. Among the flavonoids in this raw material, quercetin and rutin dominated; among phenolic acids - chlorogenic and caffeic acid. 18 compounds of a phenolic nature were identified in the leaves of *Lychnis coronaria*, among which 10 are flavonoids and 8 are phenolic acids. 11 flavonoids and 8 phenolic acids have been identified in the flowers of *Lychnis coronaria*. Apigenin dominated among flavonoids in flowers; caffeic acid prevailed among phenolic acids. 6 flavonoids and 5 phenolic acids were determined in the stems of the studied plant. Thus, it was established that the most identified phenolic compounds were in the herb, leaves and flowers of *Lychnis coronaria*. In addition, the quantitative content of the specified substances was higher in the above-mentioned types of raw materials, the lowest amount was observed in the stems of the studied plant. **Conclusions.** Therefore, the conducted studies indicate the accumulation of phenolic compounds, namely flavonoids and phenolic acids, in various parts of *Lychnis coronaria*. The obtained results can be used for the selection of promising raw materials of *Lychnis coronaria*, and also show the expediency of conducting further phytochemical research.

Keywords: *Lychnis coronaria* (L.) Murray Ex Desr., phenolic compounds, HPLC

References

1. Duangjai Tungmunnithum, Areeya Thongboonyou, Apinan Pholboon, Aujana Yangsabai. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. *Medicines* (Basel). 2018. Vol. 5(3). P. 93. doi: 10.3390/medicines5030093
2. Huan-You Lin, Tzu-Cheng Chang, Shang-Tzen Chang. A review of antioxidant and pharmacological properties of phenolic compounds in *Acacia confusa*. *J Tradit Complement Med.* 2018. Vol. 8(4). P. 443–450. doi: 10.1016/j.jtcme.2018.05.002
3. Bahar Ahmed, Mubashir H. Masoodi, Shamshir Khan et al. *Lychnis coronaria* Linn. A review. *NPAIJ.* 2008. Vol. 4(1). P. 22-25.
4. Mubashir Masoodi, Shamshir Khan, Khan S, Amita Verma. Evaluation of antihepatotoxic activity of *Lychnis coronaria* L. aqueous extract in carbon tetrachloride induced toxicity. *Indian Drugs.* 2007. Vol. 44(4). P. 618-621.
5. Pankaj Verma, Kavita Gulati, Arunabha Ray. Evaluation of Cellular and Molecular Mechanism of Anti-Asthmatic Effects of A Traditional Herbal Drug In Rats. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development.* 2021. Vol. 9(5). P. 29-34. doi: 10.22270/ajprd.v9i5.1022
6. Katarzyna Jakimiuk, Michael Wink, Michał Tomczyk. Flavonoids of the Caryophyllaceae. *Phytochemistry Reviews.* 2022. Vol. 21. P. 179–218.
7. Pohodina LI, Burda NYe, Kyslychenko VS, Martynov AV. Detection of biologically active substances in *Aristolochia clematitis* L. herb by HPLC and determination of antimicrobial activity of this raw material. *Annals of Mechnikov's Institute.* 2022. № 1. P. 73-76. DOI: 10.5281/zenodo.6350303 in Ukrainian
8. Tulub IO., Burda NYe. Study of phenolic compounds in *Zinnia elegans* raw materials by HPLC. *Annals of Mechnikov's Institute.* 2022. № 2. P. 88-90. DOI: 10.5281/zenodo.6634904 in Ukrainian