

ДОСЛІДЖЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ДЕЯКИХ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДИНИ АЙСТРОВІ (ASTERACEAE)

Тартинська Г.С., Новосел О.М., Кисличенко В.С.,
Попик А.І., Кузнєцова В.Ю.

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

Вступ. Фенольні сполуки – найбільш поширена група вторинних метаболітів рослин, до яких, зокрема, належать гідроксикоричні кислоти, флавоноїди та таніни. Відомо, що речовини фенольної природи здатні підвищувати міцність та еластичність стінки капілярів, знижують гіперфункцію щитоподібної залози, впливають на вміст глюкози в крові, ритм серцевих скорочень, беруть участь у регуляції роботи мозку, легень, печінки і нирок, є синергістами аскорбінової кислоти. Для них притаманні седативна, гіпотензивна, антисклеротична, антибактеріальна, протівірусна, протизапальна, противиражкова, протипухлинна, антимулагенна, антиоксидантна активності [2, 7]. Встановлено, що антиоксидантні властивості проявляються завдяки тому, що фенольні сполуки здатні зв'язувати іони важких металів у стійкі малоактивні комплекси. Крім того, вони є акцепторами, які утворюються при аутоотоксикації вільних радикалів, а це означає, що фенольні сполуки здатні гальмувати вільнорадикальні процеси [3, 13].

Перспективними джерелами фенольних сполук є представники родини айстрові (*Asteraceae*) – підбіл звичайний, або мати-й-мачуха (*Tussilago farfara* L.) і айстра новобельгійська (*Symphyotrichum novi-belgii* L.). За даними літератури, листя мати-й-мачухи містять фенолокислоти, хромони, флавоноїди, таніни [10]. У традиційній медицині різних країн світу мати-й-мачуху використовують для лікування кашлю, респіраторних захворювань, запалення легень, алергії, захворювань печінки, серцево-судинної системи, шлунково-кишкового тракту, діабету, остеопорозу, нейропатії, нейродегенеративних захворювань, раку молочної залози та товстої кишки [10-12]. Айстру новобельгійську застосовують як жарознижувальний, імуностимулювальний, сечогінний, кровоспинний, тонізувальний, відхаркувальний, діуретичний, анальгезувальний, антацидний, антисептичний засіб, у косметології – для лікування запалень шкіри. Корені використовують при запальних захворюваннях дихальних шляхів [1, 9].

Метою роботи було порівняльне дослідження фенольних сполук сировини мати-й-мачухи та айстри новобельгійської.

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були мати-й-мачухи листя, квітки, кореневища та айстри новобельгійської трава і корені, заготовлені у 2021 році у Харківській області. Квітки мати-й-мачухи заготовляли під час цвітіння у

квітні, листя після цвітіння у травні, кореневища – наприкінці вересня. Заготівлю трави айстри новобельгійської здійснювали у вересні, а корені – наприкінці жовтня.

Для проведення якісного аналізу готували водні та водно-етанольні витяжки сировини, що досліджувалася. Виявлення флавоноїдів і гідроксикоричних кислот проводили у водно-етанольних, дубильних речовин – у водних витяжках. Для виявлення флавоноїдів та дубильних речовин у досліджуваних видах сировини використовували хімічні реакції: ціанідинову реакцію в модифікації за Бріантом, з розчинами калію гідроксиду, феруму (III) хлориду, алюмінію хлориду, плюмбуму ацетату (флавоноїди), ферум (III) амонію сульфату, желатини, хініну гідрохлориду (дубильні речовини) [8]. Вивчення гідроксикоричних кислот і флавоноїдів проводили методом хроматографії у тонкому шарі сорбенту у порівнянні зі стандартними зразками гідроксикоричних кислот (хлорогенова, неохлорогенова, *n*-кумарова, кофейна кислоти) і флавоноїдів (рутин, кверцетин, гіперозид, лютеолін, апігенін) у рухомій фазі мурашина кислота безводна Р - вода Р - метанол Р - етилацетат Р (2,5:4:4:50). Для виявлення гідроксикоричних кислот хроматограму нагрівали при температурі 100 °С протягом 5 хв і обприскували теплу пластинку розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р у метанолі Р [6].

Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот проводили за методикою ДФУ 2.0, том 3, монографія «Кропива листя^N» спектрофотометричним методом. Вміст суми гідроксикоричних кислот (X, %) у перерахунку на хлорогенову кислоту обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times 1000}{188 \times m}$$

де: А – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм;

m – маса наважки випробовуваної сировини, г;

188 – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти [6].

Вміст флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом за методикою ДФУ 2.0, доповнення 1, монографія «Софори квітки». Вміст флавоноїдів (X, %) у перерахунку на рутин розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \times 1000}{m \times 37}$$

де: А – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 425 нм;

m – маса наважки випробовуваної сировини, г [4].

Для визначення вмісту суми поліфенольних сполук використовували методику ДФУ 2.0, том 1, загальна стаття «Визначення танінів у лікарських засобах рослинного походження». Вміст суми танінів (X, %) у перерахунку на пірогалол розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 62,5 \times 100}{A_0 \times m \times (100 - W)}$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 760 нм;

A_0 – оптична густина стандартного розчину пірогалолу за довжини хвилі 760 нм;

m – маса наважки випробовуваної сировини, г;

m_0 – маса наважки пірогалолу, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, % [5].

Дослідження катехінів у мати-й-мачухи листі та айстри новобельгійської трави здійснювали методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200. Рухомою фазою був метанол (А) та 0,1 % розчин кислоти мурашиної у воді (В). Елюювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – А (20 %) : В (80 %); 25 хв – А (75 %) : В (25 %); 27 хв – А (100 %) : В (0 %); 35 хв – А (100 %) : В (0 %). Розділення відбувалося на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 x 4,6 мм). Швидкість потоку крізь колонку складала 0,25 мл/хв., температура термостату – 35 °С, об'єм інжекції – 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу за довжин хвиль 250 та 275 нм. Спектри поглинання фіксували в діапазоні 210-700 нм. Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів катехінів. Вміст катехінів (Х, мкг/г) розраховували за формулою:

$$X = \frac{C \times V}{m}$$

де: C – концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини з якої проводили екстракцію, г [14].

Результати та обговорення

Результати усіх проведених реакцій мали позитивний результат, що свідчило про наявність флавоноїдів і дубильних речовин у досліджуваних видах сировини мати-й-мачухи та айстри новобельгійської. При проведенні ціанідинової реакції в модифікації за Бріантом з водно-станольними витяжками сировини мати-й-мачухи та айстри бельгійської водний шар мав більш інтенсивне червоне забарвлення порівняно з органічним, що свідчило про глікозидну природу флавоноїдів. У результаті реакції з розчином ферум (III) амонію сульфату у мати-й-мачухи листі та айстри бельгійської трави встановлено наявність дубильних речовин конденсованої групи (чорно-зелене забарвлення), у мати-й-мачухи квітках і кореневищах і айстри новобельгійської коренях – дубильних речовин, що гідролізуються (чорно-синє забарвлення) [1].

У результаті хроматографічного дослідження в усіх досліджуваних видах сировини мати-й-мачухи та айстри новобельгійської були виявлені гідроксикоричні кислоти та флавоноїди. Серед гідроксикоричних кислот ідентифіковані хлорогенова, неохорогенова та кофейна кислоти, а серед флавоноїдів – рутин, кверцетин, гіперозид і лютеолін.

Результати визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та суми поліфенольних сполук наведені у таблиці 1.

Таблиця 1. Вміст фенольних сполук у сировині мати-й-мачухи та айстри новобельгійської

Лікарська рослинна рослина	Вміст, %		
	гідроксикоричні кислоти	флавоноїди	сума поліфенольних сполук
Мати-й-мачухи листя	2,25±0,08	1,72±0,07	4,88±0,15
Мати-й-мачухи квітки	2,73±0,09	1,93±0,07	4,04±0,14
Мати-й-мачухи кореневища	1,18±0,05	1,07±0,05	4,36±0,15
Айстри новобельгійської трава	1,68±0,05	3,61±0,02	3,23± 0,10
Айстри новобельгійської корені	2,11±0,07	0,86±0,03	5,36±0,05

У результаті кількісного визначення встановлено, що у мати-й-мачухи квітках було встановлено найвищий вміст гідроксикоричних кислот і флавоноїдів – 2,73±0,09% і 1,93±0,07% відповідно. Мати-й-мачухи листя домінували за вмістом суми поліфенольних сполук – 4,88±0,15%. У мати-й-мачухи кореневищах вміст гідроксикоричних кислот і флавоноїдів був найнижчий – 1,18±0,05% і 1,07±0,05%. Вміст суми фенольних сполук у даному виді сировини мати-й-мачухи склав 4,36±0,15%.

У айстри новобельгійської коренях серед

досліджуваних біологічно активних речовин превалював вміст поліфенольних сполук і гідроксикоричних кислот, який складав 5,36±0,05% та 2,11±0,07% відповідно, а в траві вміст цих сполук був менший – 3,23±0,10% та 1,68±0,05% відповідно. У айстри новобельгійської трави майже в три рази більше накопичувалося флавоноїдів, ніж в коренях (3,61±0,02% та 0,86±0,03% відповідно).

Результати ВЕРХ дослідження катехінів у мати-й-мачухи листі та айстри новобельгійської трави наведені на рис. 1-2 і в таблиці 2.

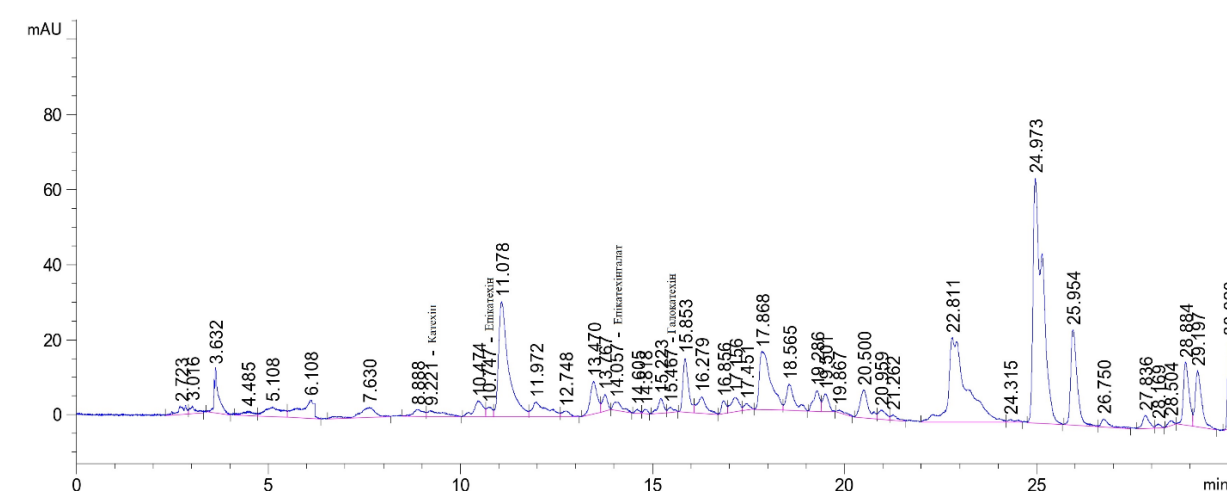


Рис. 1. ВЕРХ-хроматограма катехінів мати-й-мачухи листя.

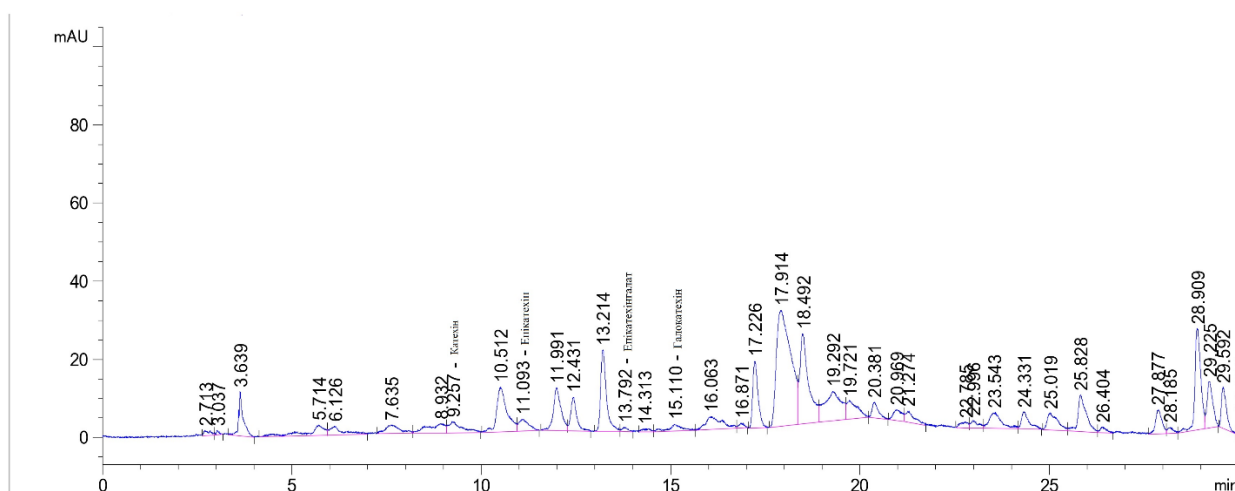


Рис. 2. ВЕРХ-хроматограма катехінів айстри новобельгійської трави.

Таблиця 2. Катехіни мати-й-мачухи листя та айстри новобельгійської трави

Сполука	Вміст, мкг/г	
	Мати-й-мачухи листя	Айстри новобельгійської трава
Катехін	949,17±18,98	543,15±14,86
Епікатехін	713,46±14,27	509,35±10,19
Епікатехінгалат	251,71±5,03	575,32±11,51
Галокатехін	538,64±10,77	272,64±5,45
Сумарний вміст катехінів	1967,98±39,36	1900,46±38,01

Аналіз одержаних даних показав, що в обох видах досліджуваної сировини ідентифіковано по 4 сполуки. Катехін превалував за вмістом у мати-й-мачухи листі (949,17±18,98 мкг/г), а епікатехінгалат – у айстри новобельгійської трави (575,32±11,51 мкг/г). Найменший вміст серед ідентифікованих сполук мали епікатехінгалат у мати-й-мачухи листі (251,71±5,03 мкг/г) і галокатехін у айстри новобельгійської трави (272,64±5,45 мкг/г). Сумарний вміст катехінів був дещо вищий у мати-й-мачухи листі (1967,98±39,36 мкг/г) порівняно з айстри новобельгійської травою, де їх сума дорівнювала 1900,46±38,01 мкг/г.

Висновки. У досліджуваній сировині мати-й-мачухи та айстри новобельгійської спектрофотометричним

методом визначено кількісний вміст: гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, поліфенольних сполук у перерахунку на пірогалол. Було встановлено, що в найбільшій кількості серед досліджуваних зразків сировини накопичувалися поліфенольні сполуки у перерахунку на пірогалол. ВЕРХ аналіз показав, що мати-й-мачухи листя та айстри новобельгійської трава містили майже однакову кількість катехинових сполук, серед яких епікатехінгалат у мати-й-мачухи листі (251,71±5,03 мкг/г) і галокатехін у айстри новобельгійської трави (272,64±5,45 мкг/г) мали найвищий вміст. Таким чином, одержані дані можуть бути використані при стандартизації та розробці методів контролю якості на рослинну сировину.

Study of phenolic compounds of some members of the aster family (*Asteraceae*)

Tartynska G. S., Novosel O. M., Kyslychenko V. S.

Introduction. Prospective sources of phenolic compounds are representatives of the aster family (*Asteraceae*) - the Common white or Coltsfoot (*Tussilago farfara* L.) and New York aster (*Symphyotrichum novi-belgii* L.). According to literature data, Coltsfoot leaves contain phenolic acids, chromones, flavonoids, and tannins [8]. In the traditional medicine of various countries of the world, Coltsfoot is used to treat cough, respiratory diseases, inflammation of the lungs, allergies, diseases of the liver, cardiovascular system, gastrointestinal tract, diabetes, osteoporosis, neuropathy, neurodegenerative diseases, breast cancer and colon [8-10]. New York aster is used as an antipyretic, immunostimulant, diuretic, hemostatic, tonic, expectorant, diuretic, analgesic, tonic, antacid, antiseptic agent, in cosmetology for the treatment of skin inflammations. The roots are used for inflammatory diseases of the respiratory tract. The aim of the work was to study a comparative study of phenolic compounds of Coltsfoot raw materials and New York aster. **Materials and methods.** Chemical reactions were used to detect flavonoids and tannins in the studied types of raw materials: cyanidin reaction in the modification according to Briant, with solutions of potassium hydroxide, ferrum (III) chloride, aluminum chloride, lead acetate (flavonoids), ferrum (III) ammonium sulfate, gelatin, quinine hydrochloride (tannins). The study of hydroxycinnamic acids and flavonoids was carried out by chromatography in a thin layer of sorbent with standard samples of hydroxycinnamic acids (chlorogenic, neochlorogenic, n-coumaric, caffeic acid) and flavonoids (rutin, quercetin, hyperoside, luteolin, apigenin) in the mobile phase formic acid anhydrous P - water R - methanol R - ethyl acetate R (2.5:4:4:50). A spectrometric method was used to determine biologically active substances in the studied raw materials. Determination of the quantitative content of hydroxycinnamic acids was carried out in accordance with the methodology of the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPU) 2.0, volume 3, monograph "Leaves of Nettle^{Nm}"; the content of the sum of polyphenolic compounds was determined according to the DFU 2.0 method, volume 1, monograph "Determination of tannins in medicinal products of plant origin"; the content of flavonoids was determined according to the DFU 2.0 method, Appendix 1, monograph "Flowers of the pagoda tree". The study of catechins in Coltsfoot leaves and New York aster herb was carried out by the method of high-performance liquid chromatography (HPLC) on an Agilent Technologies 1200 liquid chromatograph. **Research results.** The results of all the conducted reactions had a positive result, which indicated the presence of flavonoids and tannins in the studied types of raw materials. When carrying out the cyanidin reaction in the Briant modification with water-ethanol extracts of Coltsfoot raw materials, the aqueous layer had a more intense red color compared to the organic one, which indicated the glycosidic nature of flavonoids. As a result of the reaction with a solution of iron (III) ammonium

sulfate, the presence of tannins of the condensed group (black-green color) was established in the Coltsfoot leaves, and hydrolyzable tannins (black-blue color) in the flowers and rhizomes. Well-known chemical reactions confirmed the presence of flavonoids in the studied raw material of New York aster. As a result of a chromatographic study, hydroxycinnamic acids and flavonoids were detected in all studied types of raw materials of Coltsfoot and of New York aster. Among hydroxycinnamic acids, chlorogenic, neochlorogenic, and caffeic acids were identified, and among flavonoids, rutin, quercetin, hyperoside, and luteolin were identified. As a result of the quantitative determination, it was established that the highest content of hydroxycinnamic acids and flavonoids was found in Coltsfoot flowers – $2,73 \pm 0,09\%$ and $1,93 \pm 0,07\%$, respectively. Coltsfoot leaves dominated in the content of the sum of polyphenolic compounds – $4,88 \pm 0,15\%$. In Coltsfoot rhizomes, the content of hydroxycinnamic acids and flavonoids was the lowest – $1,18 \pm 0,05\%$ and $1,07 \pm 0,05\%$. The content of the sum of phenolic compounds in this type of Coltsfoot raw material was $4,36 \pm 0,15\%$. Among the studied biologically active substances, the content of polyphenolic compounds and hydroxychoic acids was predominant in the roots of the New York aster, their content was $5,36 \pm 0,05\%$ and $2,11 \pm 0,07\%$, respectively, while in the herb it was lower – $3,23 \pm 0,10\%$ and $1,68 \pm 0,05\%$, respectively. Almost three times more flavonoids were accumulated in the New York aster than in the roots ($3,61 \pm 0,02\%$ and $0,86 \pm 0,03\%$, respectively). Analysis of the obtained data showed that 4 compounds were identified in both types of studied raw materials. Catechin prevailed in the content of Coltsfoot leaves ($949.17 \pm 18.98 \mu\text{g/g}$), and epicatechinalate – in New York aster herb ($575.32 \pm 11.51 \mu\text{g/g}$). Among the identified compounds, epicatechin gallate in Coltsfoot leaves ($251.71 \pm 5.03 \mu\text{g/g}$) and halocatechin in of New York aster herb had the lowest content ($272.64 \pm 5.45 \mu\text{g/g}$). The total content of catechins was slightly higher in Coltsfoot leaves ($1967.98 \pm 39.36 \mu\text{g/g}$) compared to New York aster, where their sum was equal to $1900.46 \pm 38.01 \mu\text{g/g}$. **Conclusions.** Quantitative content of: hydroxycinnamic acids, flavonoids, polyphenolic compounds in terms of pyrogallol was determined by the spectrophotometric method in the studied raw materials of Coltsfoot and New York aster. It was established that polyphenolic compounds in terms of pyrogallol accumulated in the largest amount among the studied raw material samples. HPLC analysis showed that Coltsfoot leaves and New York aster herb contained almost the same amount of catechin compounds, among which epicatechin gallate in Coltsfoot leaves ($251,71 \pm 5,03 \mu\text{g/g}$) and halocatechin in New York aster herb ($272,64 \pm 5,45 \mu\text{g/g}$) had the highest content. Thus, the obtained data can be used in the standardization and development of quality control methods for plant raw materials.

Keywords: Coltsfoot, New York aster, *Tussilago farfara* L., *Symphyotrichum novi-belgii* L., qualitative analysis, quantitative analysis.

References

1. Bloshenko KA, Tartinska GS, Velma VV. Study of flavonoids of *Symphytotrichum novibelgii* (L.) raw materials. Youth Pharmacy Science: materials of the I All-Ukrainian scientific and practical conference with international participation (April 27-29. 2021. Kharkiv). Kharkiv. NUPh. 2021. 22
2. Phenolic compounds: diversity, biological activity, prospects for application. Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series Biology. 2015. 1(34). 104-119.
3. Phenolic compounds of derain fruit processing products. Goods and markets. 2012. 1. 110-116.
4. State Pharmacopoeia of Ukraine. SE "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for Quality of Medicinal Products". 2nd ed. Supplement. 1. Kh.: SE "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality of Medicines". 2016. 360 c.
5. State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 volumes / SE "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for Quality of Medicinal Products". 2nd ed. Kharkiv: SE "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for Quality of Medicines". 2015. 1. 1130 p.
6. State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 volumes / SE "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for Quality of Medicines". 2nd ed. Kharkiv: Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for Quality of Medicines, 2014. 3. 732.
7. Kovtun-Vodyanitska SM, Levon VF Total content of phenolic compounds in the aerial part of introductions of the genus *Isodon* (Schr. ex Benth.). Scientific notes. Series Biology and Ecology. 2015. 171. 25-28.
8. Workshop on pharmacognosy: Textbook for students of higher education institutions. VN Kovalev, NV Popova, VS Kislichenko and others. 640 c.
9. Sinytsyna IV, Marchyshyn SM, Sira LM Microscopic analysis of the herb *Aster novae-belgii* L. Pharmaceutical Journal. 2011. 2. 33-37
10. Bota V. B., Neamtu A.-A., Olah N.-K. et al. A Comparative Analysis of the Anatomy, Phenolic Profile, and Antioxidant Capacity of *Tussilago farfara* L. Vegetative Organs. Plants. 2022. 11(13). 1663-1682.
11. Chen S., Dong L., Quan H. et al. A review of the ethnobotanical value, phytochemistry, pharmacology, toxicity and quality control of *Tussilago farfara* L. (coltsfoot). Journal of Ethnopharmacology. 2021. 267. 478-543.
12. Tobyn G., Denham A., Whitelegg M. *Tussilago farfara*, coltsfoot. Medicinal plants. 2019. 10. 317-326.
13. Babenko L. M., Smirnov O. E., Romanenko K. O. et al. Phenolic compounds in plants: biogenesis and functions. Ukrainian Biochemical Journal. 2019. 91. 5-18.
14. W. Tao, Z. Zhou, B. Zhao, T. Wei. Simultaneous determination of eight catechins and four theaflavins in green, black and oolong tea using new HPLC–MS–MS method. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2016. 131. 140-145.