

Дослідження фенольних сполук у сировині Космеї двічіперистої (*Cosmos bipinnatus* Cav.)

Дейнека А.С., Журавель І.О.

Національний фармацевтичний університет

Вступ. Рід Космос (*Cosmos*) налічує приблизно 25 видів. Представники цього роду поширені на південному заході США та у Мексиці [3]. Космея двічіпериста (*Cosmos bipinnatus* Cav.) родини айстрові (*Asteraceae*) є одною з найвідоміших декоративних рослин цього роду, що широко культивується в Україні.

Хімічний склад рослини досліджується вченими багатьох країн світу [2,4,8]. Особливу увагу дослідників привертають фенольні сполуки, які виявляють широкий спектр фармакологічної активності [1,5-7]. Цей факт зумовлює доцільність вивчення цих речовин у сировині космеї двічіперистої вітчизняного походження для вибору перспективної сировини, подальшої стандартизації та розробки лікарських засобів на її основі.

Метою роботи було дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ у сировині космеї двічіперистої. **Матеріали та методи.** Для дослідження використовували траву, листя, квітки, стебла та насіння космеї двічіперистої. Трава, листя, квітки та стебла були заготовлені у фазі цвітіння рослини у липні – серпні, насіння – у серпні-вересні 2021/2022 р в Харківській області (Україна).

Для екстракції фенольних сполук 0,500 г подрібненої сировини космеї двічіперистої вносили в конічну колбу місткістю 100 мл, з'єднували її зі

зворотним холодильником, додавали 25 мл 70 % етанолу та нагрівали на водяній бані протягом 45 хв. Після цього одержану витяжку охолоджували до кімнатної температури та фільтрували через фільтр «червона стрічка» в мірну колбу місткістю 25,0 мл. Об'єм витяжки 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. Для досліджень застосовували колонку Phenomenex Luna C18, довжиною 250 мм і діаметром 4,6 мм, з розміром частинок наповнювача 5 мкм; температура колонки дорівнювала 35⁰С;

довжина хвилі детектування – 330 нм; швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; об'єм проби, що вводився – 5 мкл; рухома фаза:

елюент А: 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти у воді;

елюент Б: 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі.

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

Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та відповідності УФ-спектрів речовини-стандарту [9].

Результати та обговорення. Час утримування та вміст ідентифікованих сполук у досліджуваній сировині космеї двічіперистої наведено у табл. 1-5.

Таблиця 1. Час утримування та вміст ідентифікованих сполук у траві космеї двічіперистої

Ідентифікована речовина	Час утримування	Результати випробувань (мг/100 г)	Розширена невизначеність
Флавоноїди			
Трифолін	8,99±0,03	4,80	0,10
Ізокверцитрин	16,10±0,04	9,60	0,56
Апігенін-7-глюкуронід	8,56±0,03	0,15	0,06
Хризоепіол-7-глюкуронід	19,28±0,07	0,27	0,08
Лютеолін-7-глюкуронід	12,61±0,05	0,20	0,04
5,7,3',4'-тетрагідроксифлавонол	4,60±0,02	0,17	0,07
Рутин	31,13±0,13	7,40	0,67
Лютеолін	46,84±0,17	5,50	0,80
Кверцетин	47,11±0,14	8,20	0,79
Апігенін	52,15±0,19	2,30	0,23
Космосин	6,52±0,02	1,30	0,07
Фенольні кислоти			
Хлорогенова	20,03±0,09	20,00	0,89
Протокатехова	21,04±0,17	5,52	0,46
Кофейна	22,18±0,04	18,82	1,44
Галова	4,91±0,02	0,35	0,08
Бензойна	1,71±0,01	17,24	0,90

Корична	25,45±0,10	0,46	0,09
Гідроксибензойна	6,25±0,03	52,36	3,84
Ферулова	46,10±0,23	16,56	1,23
Ванілінова	49,41±0,22	0,02	0,01
Бузкова	56,57±0,18	1,13	0,08
<i>n</i> -Кумарова	64,47±0,27	37,62	1,56

Як видно з результатів дослідження, які наведені в табл.1, у траві космеї двічіперистої ідентифіковано по 11 флавоноїдів і фенольних кислот. Серед флавоноїдів за вмістом переважали ізокверцитрин (9,60 мг/100 г), кверцетин (8,20 мг/100 г), рутин (7,40 мг/100 г), лютеолін (5,50 мг/100 г) і трифолін (4,80 мг/100 г). Серед фенольних кислот мажоритарними були гідроксибензойна (52,36 мг/100 г) та *n*-кумарова

(37,62 мг/100 г) кислоти. Вміст хлорогенової, кофейної, бензойної та ферулової кислот відрізнявся не значно та дорівнював 20,00 мг/100 г, 18,82 мг/100 г, 17,24 мг/100 г і 16,56 мг/100 г, відповідно. Найменшим серед флавоноїдів був вміст апігенін-7-глюкуроніду (0,15 мг/100 г), серед фенольних кислот – ванілінової кислоти (0,02 мг/100 г).

Таблиця 2. Результати дослідження фенольних сполук у листі космеї двічіперистої

Ідентифікована речовина	Час утримування	Результати випробувань (мг/100 г)	Розширена невизначеність
Флавоноїди			
Трифолін	8,98±0,03	5,02	0,45
Ізокверцитрин	16,12±0,04	9,80	0,80
Апігенін-7-глюкуронід	8,58±0,03	0,12	0,05
Хризоепіол-7-глюкуронід	19,29±0,07	0,25	0,07
5,7,3',4'-тетрагідроксифлавонол	4,62±0,02	0,18	0,09
Рутин	31,43±0,13	5,80	0,89
Лютеолін	46,85±0,17	3,50	0,14
Кверцетин	47,31±0,14	6,10	0,90
Апігенін	52,16±0,19	0,18	0,08
Космосийн	6,53±0,02	1,85	0,08
Фенольні кислоти			
Хлорогенова	20,05±0,09	5,50	0,54
Протокатехова	21,06±0,17	2,53	0,78
Кофейна	22,18±0,04	6,90	0,87
Галова	4,92±0,02	0,19	0,08
Бензойна	1,72±0,01	11,35	0,87
Корична	25,44±0,10	0,31	0,08
Гідроксибензойна	6,25±0,03	23,32	1,67
Ферулова	46,11±0,23	6,42	0,90
Ванілінова	49,31±0,22	0,01	0,01
Бузкова	56,58±0,18	0,55	0,09
<i>n</i> -Кумарова	64,48±0,27	20,25	1,23

Як видно з табл. 2, у листі космеї двічіперистої ідентифіковано 10 флавоноїдів та 11 фенольних кислот. Серед флавоноїдів у цій сировині домінували ізокверцитрин (9,80 мг/100 г), кверцетин (6,10 мг/100 г), рутин (5,80 мг/100 г), трифолін (5,02 мг/100 г), лютеолін (3,50 мг/100 г) та космосийн (1,85 мг/100 г); серед фенольних кислот – гідроксибензойна (23,32 мг/100 г), *n*-кумарова (20,25мг/ 100 г) та бензойна

(11,35 мг/100 г) кислоти. Вміст кофейної (6,90 мг/100 г), ферулової (6,42 мг/100 г), хлорогенової (5,50 мг/100 г) кислот був майже на одному рівні. Протокатехова кислота поступалася за вмістом (2,53 мг/100 г). Вміст інших ідентифікованих фенольних сполук знаходився у межах 0,01-0,55 мг/100 г.

Таблиця 3. Результати дослідження фенольних сполук у стеблах космеї двічіперистої

<i>Ідентифікована речовина</i>	<i>Час утримування</i>	<i>Результати випробувань (мг/100 г)</i>	<i>Розширена невизначеність</i>
Флавоноїди			
Трифолін	8,97±0,03	0,02	0,01
Ізокверцитрин	16,10±0,04	0,04	0,01
Апігенін-7-глюкуронід	8,55±0,03	0,02	0,01
Хризоепіол-7-глюкуронід	19,26±0,07	0,01	0,01
5,7,3',4'-тетрагідроксифлавіон	4,60±0,02	0,03	0,01
Рутин	31,12±0,13	0,81	0,07
Лютеолін	46,85±0,17	0,63	0,08
Кверцетин	47,21±0,14	0,10	0,04
Апігенін	52,16±0,19	0,32	0,08
Космосийн	6,52±0,02	0,02	0,01
Фенольні кислоти			
Хлорогенова	20,02±0,09	0,82	0,05
Протокатехова	21,04±0,17	0,91	0,09
Кофейна	22,16±0,04	0,95	0,07
Галова	4,92±0,02	0,03	0,01
Бензойна	1,72±0,01	1,12	0,08
Корична	25,44±0,10	0,05	0,02
Гідроксибензойна	6,24±0,03	6,28	0,23
Ферулова	46,11±0,23	2,63	0,10
Бузкова	56,56±0,18	0,08	0,02
<i>n</i> -Кумарова	64,46±0,27	2,28	0,11

Результати досліджень стебел космеї двічіперистої, які наведені у табл.3, ілюструють якісний склад фенольних сполук та їх кількісний вміст у цій сировині. Слід відмітити значно менший вміст фенольних сполук у стеблах досліджуваної рослини у порівнянні з іншими видами сировини. У стеблах

космеї двічіперистої переважали флавоноїди рутин (0,81 мг/100 г), лютеолін (0,63 мг/100 г), апігенін (0,32 мг/100 г) та фенольні кислоти гідроксибензойна (6,28 мг/100 г), ферулова (2,63 мг/100 г), *n*-кумарова (2,28 мг/100 г) та бензойна (1,12 мг/100 г).

Таблиця 4. Результати дослідження фенольних сполук у квітках космеї двічіперистої

<i>Ідентифікована речовина</i>	<i>Час утримування</i>	<i>Результати випробувань (мг/100 г)</i>	<i>Розширена невизначеність</i>
Флавоноїди			
Трифолін	8,97±0,03	5,25	0,65
Ізокверцитрин	16,11±0,04	8,50	0,90
Апігенін-7-глюкуронід	8,57±0,03	0,20	0,04
Хризоепіол-7-глюкуронід	19,29±0,07	0,30	0,08
Лютеолін-7-глюкуронід	12,62±0,05	0,01	0,01
5,7,3',4'-тетрагідроксифлавіон	4,62±0,02	0,40	0,08
Рутин	31,14±0,13	2,30	0,34
Лютеолін	46,85±0,17	5,87	0,34
Кверцетин	47,21±0,14	2,90	0,24
Апігенін	52,17±0,19	2,81	0,12
Космосийн	6,53±0,02	0,07	0,02
Фенольні кислоти			
Хлорогенова	20,04±0,09	15,20	1,20
Протокатехова	21,06±0,17	2,41	0,10

Кофейна	22,17±0,04	12,71	0,60
Галова	4,92±0,02	0,15	0,08
Бензойна	1,70±0,01	4,87	0,34
Корична	25,46±0,10	0,18	0,06
Гідроксибензойна	6,24±0,03	24,02	1,78
Ферулова	46,11±0,23	8,55	0,56
Ванілінова	49,44±0,22	0,02	0,02
Бузкова	56,55±0,18	0,65	0,10
n-Кумарова	64,67±0,27	16,12	0,80

У квітках космеї двічіперистої ідентифіковано 11 флавоноїдів та 11 фенольних кислот. За вмістом домінував ізокверцитрин (8,50 мг/100 г), лютеолін (5,87 мг/100 г), кверцетин (2,90 мг/100 г), апігенін (2,81 мг/100 г). Мажоритарними фенольними

кислотами були гідроксибензойна (24,02 мг/100 г), n-кумарова (16,12 мг/100 г), хлорогенова (15,20 мг/100 г), кофейна (12,71 мг/100 г), ферулова (8,55 мг/100 г).

Таблиця 5. Результати визначення фенольних сполук у насінні космеї двічіперистої

Ідентифікована речовина	Час утримування	Результати випробувань (мг/100 г)	Розширена невизначеність
Флавоноїди			
Тріцин	14,30±0,57	0,30	0,07
Хризоепіол	19,33±0,77	0,90	0,06
Лютеолін	46,84±0,17	0,70	0,04
Кверцетин	47,14±0,14	3,60	0,30
Кверцетин-3-О- β - глюкопіранозид	11,23±0,04	1,70	0,22
Фенольні кислоти			
Бензойна	1,74±0,01	0,90	0,04
Ферулова	46,12±0,23	1,20	0,09
3,4-Дигідроксибензойна	3,88±0,02	0,60	0,08

Насіння космеї двічіперистої виявилось менш багатим на фенольні сполуки: було ідентифіковано 5 флавоноїдів та 3 фенольні кислоти. За вмістом переважали кверцетин (3,60 мг/100 г), кверцетин-3-О- β -глюкопіранозид (1,70 мг/100 г) та ферулова кислота (1,20 мг/100 г).

У результаті проведених досліджень встановлено, що найбільше ідентифікованих фенольних сполук спостерігалось у траві, листі, стеблах та квітках космеї двічіперистої. Вміст визначених речовин був вищий у траві, листі та квітках досліджуваної рослини. Найменше значення їх вмісту зафіксовано у стеблах і насінні космеї двічіперистої.

Крім того, слід зазначити, що у траві, листі та квітках серед флавоноїдів за вмістом домінувала спільна для цих видів сировини сполука - ізокверцитрин; у траві, листі, квітках та стеблах серед фенольних кислот - гідроксибензойна кислота. Ці дані можуть використовуватися для обґрунтування комплексного використання сировини космеї двічіперистої.

Висновки. Отримані експериментальні дані свідчать про переважне накопичення флавоноїдів і фенольних кислот у траві, листі та квітках космеї двічіперистої. Результати досліджень будуть враховані при виборі перспективної сировини космеї двічіперистої,

подальшої стандартизації та розробки лікарських засобів на її основі.

Study of phenolic compounds in *Cosmos bipinnatus* Cav. raw materials by HPLC

Deineka A. S., Zhuravel I.O.

Introduction. The genus *Cosmos* has approximately 25 species. Representatives of this genus are common in the southwestern United States and Mexico. *Cosmos bipinnatus* (Cav.) of the aster family (*Asteraceae*) is one of the most famous ornamental plants of this genus, which are widely cultivated in Ukraine. The chemical composition of the plant is being studied by scientists from many countries around the world. Phenolic compounds, which cause a wide range of their pharmacological activity, attract the special attention of researchers. This fact determines the expediency of studying these compounds in the raw materials of bipinnate cosmea of domestic origin for the selection of promising raw materials, further standardization and development of medicinal products based on it. **Materials and methods.** Grass, leaves, flowers, stems and seeds of *Cosmos bipinnatus* (Cav.) were used for research. Grass, leaves, flowers and stems were collected in the flowering phase of the plant in July-August, seeds - in August-September 2021/2022 in the Kharkiv region (Ukraine). 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 350C; 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.** 11 flavonoids and 11 phenolic acids were identified in the grass and flowers of *Cosmos bipinnatus* (Cav.), in the leaves of this plant - 10 flavonoids and 11 phenolic acids, in the stems - 10 flavonoids and 10 phenolic acids. Luteolin-7-glucuronide was not detected in the leaves and stems of *Cosmos bipinnatus* (Cav.), vanillic acid was not identified in the stems. The qualitative composition of the phenolic compounds of the seeds differed from the composition of the other studied types of raw materials. In terms of quantitative content, isoquercitrin, quercetin, rutin, hydroxybenzoic and p-coumaric acids prevailed in the grass and leaves of *Cosmos bipinnatus* (Cav.), in stems - rutin, luteolin, apigenin, hydroxybenzoic, ferulic and p-coumaric acids, in flowers - isoquercitrin, luteolin, apigenin, hydroxybenzoic, p-coumaric, chlorogenic and caffeic acids. Quercetin, quercetin-3-O-β-glucopyranoside and ferulic acid were the major flavonoids in the seeds of *Cosmos bipinnatus* (Cav.). The content of the identified substances was higher in the grass, leaves and flowers of the studied plant. The lowest value of their content was recorded in the stems and seeds of *Cosmos bipinnatus* (Cav.). **Conclusions.** The obtained experimental data indicate the predominant accumulation of flavonoids and phenolic acids in the grass, leaves and flowers of cosmea bipinnate of Ukrainian origin. Research results will be taken into account when choosing promising raw materials bipinnate cosmeia, further standardization and development of medicinal products based on it.

Keywords: *Cosmos bipinnatus* (Cav.), phenolic compounds, HPLC.

References

1. Akihisa T, Yasukawa K, Oinuma H, Kasahara Y, Yamanouchi S, Takido M, Kumaki K, Tamura T. Triterpene alcohols from the flowers of Compositae and their anti-inflammatory effects. *Phytochemistry*. 1996. Vol. 43. No 6. P. 1255–1260. DOI: 10.1016/s0031-9422(96)003433.
2. Bate-Smith EC. Astringent tannins of *Cosmos bipinnatus*. *Phytochemistry*. 1980. Vol. 9. P. 982.
3. Bijani S, Gharari Z, Ahmadnia A, Danafar H, Sharafi A. A Comparative Study of Apigenin Content and Antioxidant Potential of *Cosmos Bipinnatus* Transgenic DOI: 10.5281/zenodo.8046345

- Root Culture. *Pharm Biomed Res*. 2021. Vol.7 (2). P. 87-96.
4. Buschhaus C, Hager D, Jetter R. Wax Layers on *Cosmos bipinnatus* Petals Contribute Unequally to Total Petal Water Resistance. *Plant Physiol*. 2015. Vol. 167. P. 80–88. DOI: 10.1104/pp.114.249235.
5. Edward FG, Teresa H. *Cosmos bipinnatus*. Fact sheet FPS-148. institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 1999. pp. 1–3.
6. Nunn AVW, Guy GW, Botchway SW, Bell JD. From sunscreens to medicines: Can a dissipation hypothesis explain the beneficial aspects of many plant compounds. *Phytother. Res*. 2020. Vol. 34, No 8. P. 1868–1888. doi: 10.1002/ptr.6654.
7. Olajuyigbe O, Ashafa A. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil of *Cosmos bipinnatus* Cav. Leaves from South Africa. *Iran. J. Pharm. Res*. 2014. Vol. 13, No 4. P. 1417–1423.
8. Saito K. Quantitative variation of flavonoids and related compounds in *Cosmos bipinnatus*. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 1979. Vol. 48, No 2. P. 317–325. doi: 10.5586/asbp.1979.026.
9. Tulub IO, Burda NYe. Study of phenolic compounds in *Zinnia elegans* raw materials by HPLC. *Annals of Mechnikov's Institute*. 2022. No 2. P. 88-90. DOI: 10.5281/zenodo.6634904.