

ДОСЛІДЖЕННЯ ТРИТЕРПЕНОЇДІВ ТА КАРОТИНОЇДІВ У СИРОВИНІ КОСМЕЇ ДВІЧІПЕРИСТОЇ (*COSMOS BIPINNATUS* CAV.)

Дейнека А.С., Журавель І.О.

Кафедра фармакогнозії та нутриціології
Національного фармацевтичного університету
e-mail: cnc@nuph.edu.ua

Вступ. Тритерпеноїди та каротиноїди є природними біологічно активними речовинами, які продукують рослинні клітини. Для тритерпеноїдів притаманна протипухлинна, протизапальна, протимікробна, гепато- та кардіопротекторна активність [1]. Каротиноїди є важливими антиоксидантами, які попереджують розвиток багатьох захворювань, підтримують здоров'я та покращують якість життя людини [2-4]. Цінні види фармакологічної дії речовин терпенової природи пояснюють увагу до них учених усього світу. Джерелами цих речовин є представники родини айстрові (*Asteraceae*), зокрема космея двічипериста (*Cosmos bipinnatus* Cav.). Дослідженню терпенових похідних цієї рослини приділяли увагу вчені з Тайланду, Нігерії, Індії та інших країн світу [5-8]. Космея двічипериста культивується в Україні як декоративна рослина. Сполуки терпенової природи у сировині космеї двічиперистої, яка була вирощена в нашій країні, раніше не досліджувались, тому було доцільним провести вивчення цих речовин для подальшої стандартизації сировини та розробки лікарських рослинних засобів на її основі.

Метою роботи було дослідження тритерпенових сполук методом ГХ/МС та каротиноїдів методом ВЕРХ у траві та квітках космеї двічиперистої.

Матеріали та методи. Для дослідження використовували траву та квітки космеї двічиперистої, які були заготовлені у фазі цвітіння рослини у липні – серпні 2021/2022 р. в Харківській області (Україна).

Для екстракції тритерпенових сполук 0,05 г сировини вміщували до віали місткістю 2 мл, додавали внутрішній стандарт та 0,6 мл розчинника (метилену хлорид). Як внутрішній стандарт використовували тридекан з розрахунку 50 мкг на наважку з наступним розрахунком його концентрації. Пробу витримували 3 години при температурі 50°C в ультразвуковому екстракторі або при кімнатній температурі протягом доби. Екстракт зливали до віали місткістю 2 мл і концентрували продувкою (100 мл/хв) чистим азотом до залишкового об'єму екстракту 10 мкл. Введення проби (3 мкл) в хроматографічну колонку проводили в режимі splitless протягом 0,5 хв. При проведенні аналізу додержувалися таких умов хроматографування: хроматограф Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором 5973, хроматографічна колонка – капілярна DB-5, внутрішній діаметр 0,25 мм, довжина 30 м; швидкість газу носія (гелій) 1,2 мл/хв; температура випаровувача 350°C, температура термостата була запрограмована від 50° до 320°C зі швидкістю 4 град/хв. Для ідентифікації компонентів використовували бібліотеку мас-спектрів NIST05 та WILEY 2007 із загальною кількістю спектрів більше 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS та NIST. Для розрахунку кількісного вмісту застосовували метод внутрішнього стандарту. Розрахунок вмісту компонентів (С, мкг/кг) проводили за формулою: $C = K_1 \cdot K_2$, де $K_1 = \Pi_1 / \Pi_2$ (Π_1 – площа піку речовини, що досліджується, Π_2 – площа піку стандарту); $K_2 = 50 / M$ (50 – маса внутрішнього стандарту (мкг), який вводили у зразок, M – наважка зразка (г)). Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та відповідності УФ-спектрів речовини-стандарту [9].

Для екстракції каротиноїдів 1,00 г сировини вміщували в колбу на 100 мл і додавали 30 мл суміші гексан-ацетон-етанол-толуен (10:7:6:7), 2 мл 40 % метанольного розчину калію гідроксиду та залишали у темному місці на 16 год при кімнатній температурі.

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

Ідентифікована речовина	Час утримування	Результати випробувань (мг/кг)	Розширена невизначеність
Тритерпеноїди			
Тараксерол	36,25	7,62	0,92
α-Амірин	32,52	23,55	1,67
β-Амірин	31,00	45,20	3,12
Циклоартанол	29,72	6,57	0,56
Лупеол	32,68	5,96	0,90
Каротиноїди			
β-Каротин	19,50	70,15	3,26
Лютеїн	11,22	37,24	1,01
Віолаксантин	7,85	30,46	1,13
Зеаксантин	13,52	21,27	0,89
Кріптоксантин	14,23	18,57	0,41

Після цього у колбу вносили 30 мл гексану та 10 % розчин натрію сульфату, розчин інтенсивно струшували та залишали в темному місці на 1 год для розділення фаз. Для досліджень застосовували гексанову фазу. Аналіз каротиноїдів проводили методом ВЕРХ за відомою методикою [5].

Результати та обговорення. Час утримування та вміст ідентифікованих сполук у досліджуваній сировині космеї двічіперистої наведено у табл. 1-2.

Як видно з результатів дослідження, які наведені в табл.1, у траві космеї двічіперистої ідентифіковано 5 тритерпенових сполук та 5 каротиноїдів. Серед тритерпенових сполук ідентифіковано 4 пентациклічні

та 1 тетрациклічний сапонін. За вмістом серед пентациклічних сапонінів переважали α -амірин (45,20 мг/кг) та β -амірин (23,55 мг/кг). Вміст тараксеролу дорівнював 7,62 мг/кг, лупеолу – 5,96 мг/кг. Вміст тетрациклічного сапоніну циклоартанолу склав 6,57 мг/кг.

Серед каротиноїдів домінував β -каротин (70,15 мг/кг). Вміст лютеїну та віолаксантину був майже вдвічі менше й дорівнював 37,24 мг/кг та 30,46 мг/кг відповідно. У менших кількостях містилися зеаксантин (21,27 мг/кг) та кріптоксантин (18,57 мг/кг).

Таблиця 2. Час утримування та вміст ідентифікованих сполук у квітках космеї двічіперистої

Ідентифікована речовина	Час утримування	Результати випробувань (мг/кг)	Розширена невизначеність
Тритерпеноїди			
Тараксерол	35,76	10,35	0,80
α -Амірин	33,15	13,21	0,35
β -Амірин	32,14	19,37	0,98
Циклоартанол	30,21	7,56	0,47
Лупеол	33,42	14,72	0,95
24-Метиленциклоартанол	32,92	2,71	0,12
Тараксастерол	37,23	9,68	0,78
Каротиноїди			
β -Каротин	19,58	78,50	3,62
Лютеїн	11,31	52,15	2,31
Віолаксантин	7,88	40,72	1,81
Зеаксантин	13,76	28,50	1,02
Неоксантин	7,43	10,35	0,91
Кріптоксантин	14,28	20,42	0,61

Як видно з табл. 2, у квітках космеї двічіперистої ідентифіковано 7 тритерпеноїдів, серед яких 5 пентациклічних і 2 тетрациклічних сапонінів, та 6 каротиноїдів. Серед тритерпеноїдів у цій сировині домінували α -амірин (19,37 мг/кг), лупеол (14,72 мг/кг) та β -амірин (13,21 мг/кг). Вміст інших пентациклічних сполук був дещо меншим: тараксерол – 10,35 мг/кг, тараксастерол – 9,68 мг/кг. Тетрациклічні сапоніни були представлені у меншій кількості. Вміст циклоартанолу склав 7,56 мг/кг, 24-метиленциклоартанолу дорівнював 2,71 мг/кг.

Серед каротиноїдів мажоритарними були β -каротин (78,50 мг/кг), лютеїн (52,15 мг/кг) та віолаксантин (40,72 мг/кг). Вміст інших ідентифікованих каротиноїдів був меншим і знаходився в межах 28,50 – 10,35 мг/кг.

Тритерпеноїди 24-метиленциклоартанол, тараксастерол та каротиноїд неоксантин були ідентифіковані у квітках космеї двічіперистої.

На підставі результатів досліджень встановлено, що вміст ідентифікованих тритерпенових сполук у траві космеї двічіперистої був вищий (88,9

мг/кг), ніж у квітках (77,6 мг/кг), вміст каротиноїдів навпаки переважав у квітках (230,64 мг/кг), у траві їх вміст дорівнював 177,69 мг/кг. Серед тритерпеноїдів у траві та квітках космеї двічіперистої домінував β -амірин, серед каротиноїдів – β -каротин.

Отримані результати мають значення для обґрунтування комплексного використання сировини космеї двічіперистої.

Висновки. Проведені дослідження доводять наявність важливих тритерпеноїдів та каротиноїдів у траві та квітках космеї двічіперистої, їх вміст дозволяє прогнозувати фармакологічну дію досліджуваної сировини та перспективу розробки лікарських засобів на її основі.

Research of triterpenoids and carotenoids in *Cosmos bipinnatus* Cav. raw materials

Deineka A. S., Zhuravel I.O.

Introduction. Triterpenoids and carotenoids are natural biologically active substances produced by plant cells. Triterpenoids have inherent antitumor, anti-inflammatory, antimicrobial, hepato- and cardioprotective activity.

Carotenoids are important antioxidants that prevent the development of many diseases, maintain health and improve the quality of human life. Valuable types of pharmacological action of substances of terpene nature explain the attention to them of scientists all over the world. The sources of these substances are representatives of the aster family (Asteraceae), in particular *Cosmos bipinnatus* Cav. Scientists from Thailand, Nigeria, India and other countries of the world paid attention to the study of terpene derivatives of this plant. *Cosmos bipinnatus* Cav. cultivated in Ukraine as an ornamental plant. Compounds of terpene nature in the raw materials of *Cosmos bipinnatus* Cav., which was grown in our country, had not been studied before, so it was appropriate to study these substances for further standardization of raw materials and the development of herbal medicinal products based on them.

Materials and methods. For the study, we used grass and flowers of *Cosmos bipinnatus* Cav., which were collected during the flowering phase of the plant in July - August 2021/2022 in the Kharkiv region (Ukraine). For the extraction of triterpene compounds, 0.05 g of raw material was placed in a vial with a capacity of 2 ml, an internal standard and 0.6 ml of solvent (methylene chloride) were added. As an internal standard, tridecane was used at the rate of 50 µg per sample, followed by the calculation of its concentration. The sample was kept for 3 hours at a temperature of 50°C in an ultrasonic extractor or at room temperature for a day. The extract was poured into a vial with a capacity of 2 ml and concentrated by purging (100 ml/min) with pure nitrogen to a residual extract volume of 10 µl. The introduction of the sample (3 µl) into the chromatographic column was performed in splitless mode for 0.5 min. The following chromatographic conditions were observed during the analysis: Agilent Technologies 6890 chromatograph with 5973 mass spectrometric detector, chromatographic column – capillary DB-5, internal diameter 0.25 mm, length 30 m; velocity of carrier gas (helium) 1.2 ml/min; evaporator temperature 350°C, thermostat temperature was programmed from 50° to 320°C at a rate of 4 deg/min. The NIST05 and WILEY 2007 mass spectra library with a total of more than 470,000 spectra were used for component identification in conjunction with AMDIS and NIST identification programs. The internal standard method was used to calculate the quantitative content. The content of components (C, mg/kg) was calculated according to the formula: $C=K1 \cdot K2$, where $K1=\Pi1/\Pi2$ ($\Pi1$ – the area of the peak of the substance under investigation, $\Pi2$ – the area of the peak of the standard); $K2=50/M$ (50 is the mass of the internal standard (µg), which was introduced into the sample, M is the weight of the sample (g)). Identification of components was carried out by retention time and compliance of UV spectra with the substance-standard.

For the extraction of carotenoids, 1.00 g of raw material was placed in a 100 ml flask and 30 ml of a mixture of hexane-acetone-ethanol-toluene (10:7:6:7), 2 ml of a 40% methanol solution of potassium hydroxide was added and left in a dark place at 16 hours at room temperature. After that, 30 ml of hexane and 10% sodium sulfate solution were added to the flask, the solution was

DOI: 10.5281/zenodo.8324873

vigorously shaken and left in a dark place for 1 h to separate the phases. The hexane phase was used for research. Analysis of carotenoids was performed by HPLC according to a known method. **Research results.** 5 triterpene compounds and 5 carotenoids, of which 4 pentacyclic and 1 tetracyclic saponin, were identified in the grass of *Cosmos bipinnatus* Cav. 7 triterpenoids, including 5 pentacyclic and 2 tetracyclic saponins, and 6 carotenoids were found in the flowers of this plant. Among the pentacyclic saponins, β -amyirin (45.20 mg/kg) and α -amyirin (23.55 mg/kg) prevailed in the grass of the studied plant, β -amyirin (19.37 mg/kg), lupeol dominated in the flowers (14.72 mg/kg) and α -amyirin (13.21 mg/kg). Among the carotenoids, β -carotene (70.15 mg/kg) prevailed in the grass of *Cosmos bipinnatus* Cav., in the flowers of the plant, β -carotene (78.50 mg/kg), lutein (52.15 mg/kg) and violaxanthin (40, 72 mg/kg). The triterpenoids 24-methylenecycloartanol, taraxasterol and the carotenoid neoxanthin were identified in the flowers of *Cosmos bipinnatus* Cav. The obtained results are important for substantiating the complex use of raw materials of *Cosmos bipinnatus* Cav.

Conclusions. The conducted studies prove the presence of important triterpenoids and carotenoids in the grass and flowers of *Cosmos bipinnatus* Cav., their content allows predicting the pharmacological effect of the studied raw material and the prospect of developing medicines based on it.

Keywords: *Cosmos bipinnatus* Cav., triterpenoids, carotenoids, GC/MC, HPLC.

References

1. Petr Dzubak, Marian Hajduch, David Vydra, Alisa Hustova, Miroslav Kvasnica, David Biedermann, Lenka Markova, Milan Urban, Jan Sarek. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. *Natural Product Reports*. 2006. 23. P. 394 – 411. DOI: 10.1039/b515312n.
2. Irwandi Jaswir, Dedi Noviendri, Reno Fitri Hasrini, Fitri Octavianti. Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. *Journal of Medical Plants Research*. Vol.5. № 33. P. 7119 -7131. DOI: 10.5897/JMPRx11.011.
3. Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*. Vol. 55. № 3. P. 207 – 216.
4. Sonlimar Mangunsong, Muhamad Taswin, Satheesh Babu Natarajan. Determine β -carotene in carrot (*Daucus carota* L.) by using HPLC and GC-MS. *Jornal of Pharmacy*. Vol. 10. (12). P. 21 – 27.
5. Jidapha Tinoi, Nuansri Rakariyatham, Richard L. Deming. Determination of Major Carotenoid Constituents in Petal Extracts of Eight Selected Flowering Plants in the North of Thailand. *Chiang Mai Journal science*. 2006. Vol. 33 (2). P. 327 – 334.
6. Tejaswi Jasti, Manisha Senapathi, Sasank P, Varaprasad Bobbarala, Kandra Premeela. Evaluation of Anti-oxidant, Anti-microbial and Phytochemical analysis of different parts of *C. bipinnatus*. *Research J. Pharm. and Tech* 2022. Vol. 15. № 4. P.1455 – 1460. DOI: 10.52711/0974-360X.2022.00241.

7. 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.
8. 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.
9. Burda NE. Study of structural compounds of shiitake, reishi and cordyceps mushrooms. *Phytotherapy. Chasopis.* 2013. № 4. C. 67 - 69.