

## КОМПОНЕНТНИЙ СКЛАД РЯДУ СПОЛУК ФЕНОЛЬНОЇ ПРИРОДИ У ПЛОДАХ *VIBURNUM OPULUS* L.

Ольга Хворост, Богдан Леонтів

National University of Pharmacy of Ukraine

### Вступ

*Viburnum opulus* L. (*Viburnaceae*) – найпоширеніший в зоні помірного клімату чагарник. У дикорослому стані зустрічається переважно у західних областях України. Але широко культивується на всій території країни [1]. Кора калини та плоди калини в Україні – це види сировини фармакопейного гатунку.

В листі доведено наявність фенолкарбонових кислот, в тому числі гідроксикоричних (галової, п-гідроксисбензойної, сирингової, саліцилової та хлорогенової, кавової, п-кумарової, о-кумарова, ферулової) та флавоноїдів (похідних флавану - (+)-катехіну та (-)-епікатехіну, флавонів лютеоліну, апігеніну і хризину та флавонолу – кемпферолу, кверцетину, мірицетину та рутину). Домінували галова, -кумарова кислоти, кемпферол та мірицетин [2]. Плоди містять леткі сполуки, органічні кислоти, фенольні сполуки, в тому числі флавоноїди та антоціани), вітаміни, цукри, пектинові речовини [3-6] та широко застосовуються у народній та науковій медицині як антиоксидантне [7], імуностимулююче, загальнозміцнююче, протизапальне, сечо- та жовчогінне, протиракове тощо [8-12]. З плодів калини у харчовій промисловості отримують сік, сиропи, різні напої, цукати тощо [13-16].

Литовські дослідники розробили технологію отримання ліпофільних екстрактів антиоксидантної дії з плодів, митих та немитих вичавок плодів *V. opulus* за допомогою зеленої екстракції надкритичним діоксидом вуглецю, дослідили їх хімічний склад та встановили потужну антиоксидантну дію, що зумовлює застосування екстрактів в якості нутрієнтів [17,18]. Впроваджено нові селекційні форми *V. opulus* («Струмкова», «Горіхова», «Красуня»), які також можуть мати потужну біологічну активність, встановлено їх морфобіологічні та біохімічні ознаки [19]. На сьогодні в Україні немає лікарського препарату з плодів калини звичайної. В рамках системного фармакогностичного вивчення плодів цієї рослини вітчизняної заготівлі встановлення компонентного складу фенольних сполук є актуальною фармакогностичною задачею.

Мета роботи – вивчення компонентного складу сполук фенольної природи у плодах *V. opulus* української заготівлі.

### Матеріали і методи

Сировину – плоди *V. opulus* заготовляли у 2021 році (Kharkiv region Chuguevsky district 49°58'54" N; 36°44'46"E). (Харківська область Чугуївський район 49°58'54" N; 36°44'46"E).

Пробопідготовка для визначення за методом ВЕРХ *гідроксикоричних кислот*: Наважка сировини кожної проби 0,4-0,6 г, екстрагувалася в 5 мл 60%

розчину метанолу на ультразвуковій бані при 80 С впродовж 4 годин в скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Отриманий екстракт центрифугували при 3 тис об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Рідинну хроматографію проведено на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200. В якості рухомої фази використовували метанол (А) та 0,1% розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елюювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – А (25 %) : В (75 %); 25 хв – А (75 %) : В (25 %); 27 хв – А (100 %) : В (0 %); 35 хв – А (100 %) : В (0 %). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-Aq (4,6 мм±150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку 0,5 мл/хв., температура термостату 30 °С, об'єм інжекції 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 250 та 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [20].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів фенольних сполук (галової кислоти, гідроксифеніл оцтової кислоти, хлорогенової кислоти, кофейної кислоти, сирингової кислоти, *p*-кумарової кислоти, *trans*-ферулової кислоти, синапової кислоти, *trans*-цинамової кислоти, хінної кислоти).

Вміст сполук (X) (мкг/г) визначали за формулою:

$$X = c \cdot V / m,$$

де *c* – концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл; *V* – об'єм екстракту, мл; *m* – маса сировини з якої проводили екстракцію, г.

Методика визначення компонентного складу *сполук флавоноїдної природи* за методом ВЕРХ.

Наважка сировини кожної проби 0,3-0,6 г, екстрагувалася в 5 мл 70% розчину етилового спирту на ультразвуковій бані при 80 С впродовж 5 годин в скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Отриманий екстракт центрифугували при 3000 об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Рідинну хроматографію проведено на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200. В якості рухомої фази використовували ацетонітрил (А) та 0,1% розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елюювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – А (30 %) : В (70 %); 20 хв – А (70 %) : В (30 %); 22 хв – А (100 %) : В (0 %); 30 хв – А (100 %) : В (0 %). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 x 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку 0,25 мл/хв., температура термостату 30 °С, об'єм інжекції 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 280 та 365 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [21].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів флавоноїдів (рутину, кверцетин-3-*b*-глікозиду, нарінгїну, неогесперїдину, кверцетину, нарінгенїну, кемпферолу, лютеолїну).

Кількість флавоноїдів (X) (мкг/г) визначали за формулою:

$$X = c \cdot V / m,$$

де c – концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл; V – об'єм екстракту, мл; m – маса сировини з якої проводили екстракцію, г.

Хроматограму ВЕРХ (зразок) гідроксикоричних кислот наведено на рис.1, компонентний склад – у таблиці. Загалом знайдено не менше 5 сполук цієї групи. За вмістом лідирує хлорогенова кислота (902,3±1,7 мкг/г), вміст решти компонентів нижчий в 10-20 разів.

### Результати і обговорення

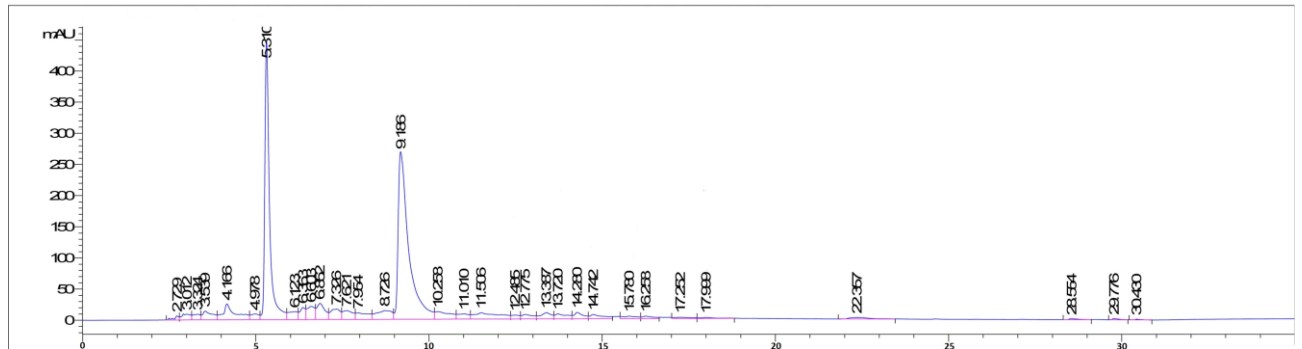


Рис. 1 Зразок ВЕРХ хроматограми гідроксикоричних кислот плодів *V. opulus*

Таб.1 Компонентний склад гідроксикоричних кислот у плодах *V. opulus* (m=5)

№ піку з/п	Час виходу, хв	Сполука	Концентрація, мкг/г
19	10,25	Хлорогенова кислота	902,3±1,7
23	12,48	Сирінгова кислота	40,5±0,9
26	13,72	p-Кумарова кислота	87,5±0,5
28	14,74	trans-Ферулова кислота	82,1±0,3
29	15,78	Синапова кислота	42,5±0,5

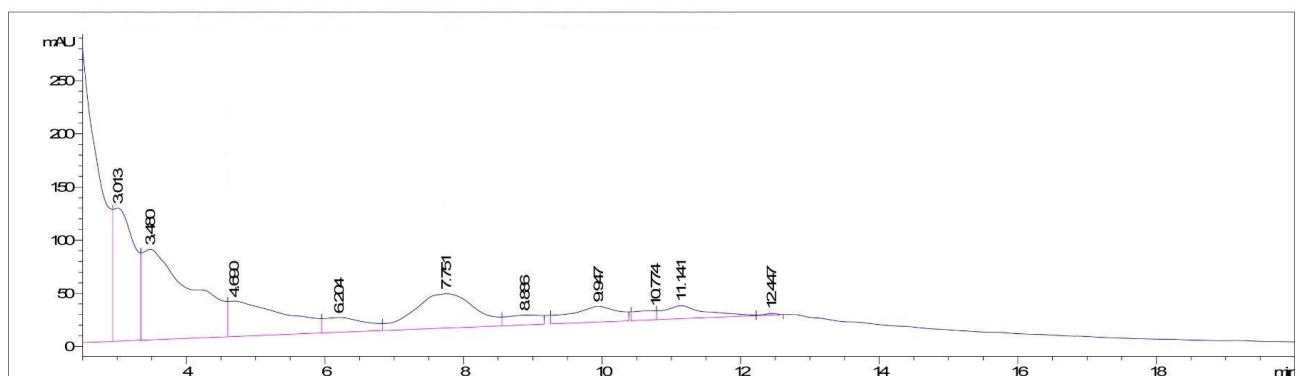


Рис. 2 ВЕРХ хроматограма флавоноїдів плодів *V. opulus*

Зразок хроматограми ВЕРХ сполук флавоноїдної природи наведено на рис. 2.

Нами знайдено не менш 3 сполук флавоноїдної природи, з яких один глікозид халкону да 2 глікозиди флавонолу кверцетину. Високий вміст визначено для біозиду рутину - 2569,54±2,00 мкг/г, значно нижчий (майже у 20 разів) вміст визначено для кверцетин-3-O-β-глюкозиду (ізокверцитрину) 135,99±0,03 мкг/г. Вміст неогесперидіну в порівнянні з рутинном нижче майже удвічі та дорівнює 1369,02±0,76 мкг/г. До речі, неогесперидін є модифікатором смаку (підсолоджувачем). Джерелом його отримання традиційно є цитрусові (екзкарпій грейпфруту), це харчова добавка E 959, що додають до складу зубних паст, ополіскувачів ротової порожнини, десертів,

морозива, йогуртів, кетчупів, майонезів, а також використовують як допоміжну речовину у лікарських засобах. Раніше відомостей про наявність неогесперидіну у плодах калини звичайної ми у доступних джерелах літератури не знайшли.

**Key words:** *Viburnum opulus* L., fruits, hydroxycinnamic acids, flavonoids

### Висновки

1. За допомогою ВЕРХ з'ясовано компонентний склад таких груп фенольних сполук як гідроксикоричні кислоти та флавоноїди.
2. Знайдено не менше 5 гідроксикоричних кислот з домінуванням хлорогенової кислоти (902,3±1,7 мкг/г)

та не менше 3 флавоноїдних глікозидів з домінуванням рутину (2569,54±2,00 мкг/г).

3. Отримані результати досліджень стали у нагоді при виборі лікарської форми та критеріїв її стандартизації.

### Component composition of a number of phenolic compounds in fruits *Viburnum opulus* L.

**Olha Khvorost, Bogdan Leontiev**

**Introduction.** *Viburnum opulus* L. (*Viburnaceae*) is the most common shrub in the temperate zone. In the wild state, it is found mainly in the western regions of Ukraine. But it is widely cultivated throughout the country.

*Viburnum* bark and *viburnum* fruits in Ukraine are types of raw materials of the pharmacopoeial variety. Fruits contain volatile compounds, organic acids, phenolic compounds, including flavonoids and anthocyanins), vitamins, sugars, pectin substances and are widely used in folk and scientific medicine as antioxidant, immunostimulating, tonic, anti-inflammatory, diuretic and choleric, anticancer, etc. *Viburnum* fruits are used in the food industry to produce juice, syrups, various drinks, candies, etc. Lithuanian researchers developed a technology for obtaining lipophilic extracts with antioxidant activity from the fruits, washed and unwashed extracts of *V. opulus* fruits using green extraction with supercritical carbon dioxide, studied their chemical composition and established a powerful antioxidant effect, which determines the use of extracts as nutrients. New breeding forms of *V. opulus* («Strumkova», «Gorikhova», «Krasunya») were introduced, which may be of state power, morpho-biological signs and biochemical indications were added. Currently, in Ukraine there is no medicinal preparation made from *Viburnum* fruits. As part of the systematic pharmacognostic study of the fruits of this domestically harvested plant, establishing the component composition of phenolic compounds is an urgent pharmacognostic task. **The purpose** of the work is to study the component composition of compounds of phenolic nature in the fruits of *V. opulus* harvested from Ukraine.

**Materials&methods.** Raw material - fruits of *V. opulus* were harvested in 2021 (Kharkiv region Chuguevsky district 49°58'54" N; 36°44'46"E). HPLC was performed on an Agilent Technologies 1200 (USA) liquid chromatograph. **Results&discussion.** In total, at least 5 compounds belonging to hydroxycinnamic acids were found. Chlorogenic acid (902,3±1,7 μg/g) leads the way in terms of content, while the content of the remaining components is 10-20 times lower. We found at least 3 compounds of flavonoid nature, of which one chalcone glycoside and 2 flavonol quercetin glycosides. A high content was determined for the bioside rutin – 2569,54±2,00 μg/g, a much lower (almost 20 times) content was determined for quercetin-3-O-β-glucoside (isoquercitrin) 135,99±0,03 μg/g. The content of neohesperidin compared to rutin is almost twice as low and equal to 1369,02±0,76 μg/g. By the way, neohesperidin is a taste modifier (sweetener). Previously, we did not find information about the presence of neohesperidin in *Viburnum* fruits in the available sources of literature. **Conclusions.** 1. The component composition of groups of phenolic compounds such as

hydroxycinnamic acids and flavonoids was determined using HPLC. 2. At least 5 hydroxycinnamic acids dominated by chlorogenic acid (902.3±1.7 μg/g) and at least 3 flavonoid glycosides dominated by rutin (2569.54±2.00 μg/g) were found. 3. The obtained research results were useful when choosing a dosage form and criteria for its standardization.

**Keywords:** phenolic compounds, fruits, *Viburnum opulus*

### References

1. Kislyuk VO, Kislyuk VV, Grinyk OM, Grinyk GG. Vegetative propagation of the common viburnum (*Viburnum opulus* L.) Scientific bulletin of the NLTU of Ukraine. 2017. 27(1). pp. 38–43. doi: <https://doi.org/10.15421/40270108>.
2. Goławska S, Łukasik I, Chojnacki AA, Chrzanowski G. Flavonoids and Phenolic Acids Content in Cultivation and Wild Collection of European Cranberry Bush *Viburnum opulus* L. *Molecules*. 2023. 28(5). 2285. doi.org/10.3390/molecules28052285.
3. Bujor A, Miron A, Luca SV, Skalicka-Wozniak K, Silion M, Ancuceanu R, Dinu M, Girard C, Demougeot C, Totoson P. Metabolite profiling, arginase inhibition and vasorelaxant activity of *Cornus mas*, *Sorbus aucuparia* and *Viburnum opulus* fruit extracts. *Food Chem Toxicol*. 2019. 133. 110764. doi: 10.1016/j.fct.2019.110764
4. Ozkan G, Stübler AS, Aganovic K, Dräger G, Esatbeyoglu T, Capanoglu E. Retention of polyphenols and vitamin C in cranberrybush purée (*Viburnum opulus*) by means of non-thermal treatments. *Food Chemistry*. 2021. 360. 129918. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129918>.
5. Yilmaztekin M, Sislioglu K. Changes in Volatile Compounds and Some Physicochemical Properties of European Cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) During Ripening Through Traditional Fermentation. *Journal of Food Science*. 2015. 80. 4. P. 687-694. doi: 10.1111/1750-3841.12836.
6. Zarifikhosroshahi ., Murathan ZT, Kafkas E, Okatan V. Variation in volatile and fatty acid contents among *Viburnum opulus* L. Fruits growing different locations. *Scientia Horticulturae*. 2020. 264. 109160. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109160>.
7. Karaçelik AA, Küçük M, İskefiyeli Z, Aydemir S, De Smet S, Miserez B, Sandra P. Antioxidant components of *Viburnum opulus* L. determined by on-line HPLC-UV-ABTS radical scavenging and LC-UV-ESI-MS methods. *Food Chemistry*. 2015. 175. P. 106-114. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.11.085.
8. Ceylan D, Aksoy A, Ertekin T, Yay AH, Nisari M, Karatoprak GŞ, Ülger H. The effects of gilaburu (*Viburnum opulus*) juice on experimentally induced Ehrlich ascites tumor in mice. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2018. 14(2). P. 314-320. doi: 10.4103/0973-1482.181173.
9. Zakłós-Szyda M, Kowalska-Baron A, Pietrzyk N, Drzazga A, Podśedek A. Evaluation of *Viburnum opulus* L. Fruit Phenolics Cytoprotective Potential on Insulinoma

- MIN6 Cells Relevant for Diabetes Mellitus and Obesity. *Antioxidants (Basel)*. 2020. 9(5). P. 433. doi: 10.3390/antiox9050433.
10. Sariözkan S, Türk G, Eken A, Bayram LÇ, Baldemir A, Doğan G. Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) fruit extract alleviates testis and sperm damages induced by taxane-based chemotherapeutics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017. 95. P. 1284-1294. doi: 10.1016/j.biopha.2017.09.057.
11. Kraujalytė V, Leitner E, Venskutonis ER. Chemical and sensory characterisation of aroma of *Viburnum opulus* fruits by solid phase microextraction-gas chromatography-olfactometry. *Food Chemistry*. 2012. 132(2). P. 717-723. doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.007.
12. Yel BO, Cam ME, Yuksel M, Karakoyun B. Protective and Ameliorative Effects of Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Fruit Extract on Acetic Acid-Induced Colitis in Rats. *Acta Physiologica*. 2018. 225. P. 24-24.
13. Miroshnik YuA, Medved IM, Shidlovskaya OB, Dotsenko PF. The use of viburnum, rowan and sea buckthorn powders in semi-finished biscuit technology. *Scientific works of ONAKHT*. 2014. 46, 1. pp. 166-170.
14. Solovey OS, Koval MO, Shutyuk OV. Prospects for the use of viburnum fruits in the food industry // *Materials 85 Yuvil. Intl. scientific conference young uch., postgraduate and stud. "Scientific achievements of youth - solving the problems of human nutrition in the 21st century"*, dedicated to the 135th anniversary of NUHT April 11–12, 2019 - K.: NUHT, 2019 - Part 1. – P.330.
15. Seker IT, Ertop MH, Hayta M. Physicochemical and bioactive properties of cakes incorporated with gilaburu fruit (*Viburnum opulus*) pomace. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*. 2016. 8(2). P. 261-266.
16. Sonmezdag AS, Sevindik O, Kelebek H, Selli S. Identification of aroma compounds of *Vibirnum opulus* L. juice using the purge and trap technique. *Journal of Biotechnology*. 2017. 256. P. S26. doi:10.1016/j.jbiotec.2017.06.640
17. Dienaitė L, Pukalskienė M, Pereira CV, Matias AA, Venskutonis PR. Supercritical carbon dioxide and pressurized liquid extraction of valuable ingredients from *Viburnum opulus* pomace and berries and evaluation of product characteristics. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2017. 122. P. 99-108. doi.org/10.1016/j.supflu.2016.12.008
18. Dienaitė L, Baranauskienė B, Venskutonis PR. Lipophilic extracts isolated from European cranberry bush (*Viburnum opulus*) and sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) berry pomace by supercritical CO<sub>2</sub> – Promising bioactive ingredients for foods and nutraceuticals. *Food Chemistry*. 2021. 348. 129047. doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129047.
19. Moskalets V.V., Moskalets T.Z., Barat Yu.M., Ovezmiradova OB, Nevmerzhitskaya OM. Evaluation of new breeding forms of common viburnum according to ecological and economically valuable characteristics. *Scientific horizons*. 2020. 08(93). pp. 125-132.
20. Seeram N. P. et al. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. *Food Chemistry*. 2006. 97 (1). C. 1-11.
21. Justesen U, Knuthsen P, Leth T. Determination of plant polyphenols in Danish food stuffs by HPLC-UV and LC-MS detection. *Cancer Letters*. 1997. 114.1-2. P. 165-167.