

І. Ф. Дуюн¹, С. М. Марчишин²
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ¹
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ²

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ КАРОТИНОЇДІВ У ДЕРЕВІЮ ПАГОРБОВОГО ТА ДЕРЕВІЮ ПОДОВОГО СУЦВІТТЯХ

Вступ. Актуальним на сьогодні є пошук нових сполук, здатних пригнічувати вільнорадикальне окиснення на різних стадіях патологічного процесу. З урахуванням перспектив практичного використання особливу увагу привертають антиоксиданти. Пріоритетним та перспективним є застосування природних біоантиоксидантів як таких, що проявляють менше побічних ефектів. До поширених груп біоантиоксидантів належать жиророзчинні ендogenous антиоксиданти – каротиноїди, які мають виражені антиоксидантні властивості. Основна функція каротиноїдів і в рослинній клітині, і в організмі людини полягає в захисті її структур від ушкоджувальної дії вільних радикалів. З огляду на високу біологічну активність каротиноїдів, доцільним є дослідження перспективних видів роду *Achillea* L. – деревію пагорбового (*Achillea collina* J. Becker ex Reichenb.) і деревію подового (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka), які широко розповсюджені в Україні, мають тривалий період вегетації, є перспективними для фармакогностичного та фармакологічного вивчення.

Мета дослідження – виявити і визначити кількісний вміст каротиноїдів у деревію пагорбового та деревію подового суцвіттях, заготовлених у різних регіонах України.

Методи дослідження. Матеріалом для дослідження було деревію пагорбового та деревію подового суцвіття. Сировину збирали на території Запорізької, Дніпропетровської, Херсонської, Миколаївської, Харківської областей протягом вегетаційного періоду (липень – жовтень) у 2019–2020 рр. Якісний склад каротиноїдів встановлювали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках "Silufol UF-254" ("Avalier", Чехія), використовуючи рухомі фази – гексан – ацетон (95:5), гексан – бензол – ацетон (1:1:1) і стандартні зразки β -каротину, лютеїну, зеаксантину. Для визначення кількісного вмісту суми каротиноїдів застосовували метод УФ-спектроскопії, вимірюючи оптичну густину на спектрофотометрі "Specord-200 UV/Vis Lambda 365 (Analytic Jena)" за довжини хвилі $\lambda=450-479$ нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували β -каротин та лютеїн ("LGC Standards", Англія).

Результати й обговорення. Методом ТШХ у досліджуваних об'єктах ідентифіковано речовини, що належать до каротиноїдів (речовина 1: $R_f=0,73$, бурого забарвлення в УФ-ділянці; речовина 2: $R_f=0,90$, помаранчевого забарвлення в УФ-ділянці). Кількісний вміст суми каротиноїдів у деревію пагорбового суцвіттях був у межах 13,72–16,28 мг %, у деревію подового суцвіттях – у межах 15,34–17,22 мг %. Найбільший кількісний вміст суми каротиноїдів спостерігали у деревію подового суцвіттях, заготовлених у м. Генічеськ Херсонської області ((17,22 \pm 2,89) мг %), дещо менший – у деревію пагорбового суцвіттях, заготовлених у м. Лозова Харківської області ((16,28 \pm 2,75) мг %).

Висновки. Методом ТШХ у деревію пагорбового та деревію подового суцвіттях ідентифіковано каротиноїди. Встановлено, що кількісний вміст суми каротиноїдів у деревію пагорбового суцвіттях, заготовлених у різних регіонах, був у межах 13,72–16,28 мг %, у деревію подового суцвіттях – у межах 15,34–17,22 мг %. Враховуючи наявність у каротиноїдів антиоксидантних властивостей (за даними літератури), важливим є подальше дослідження сировини видів роду *Деревій* з метою створення нових лікарських засобів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **деревій пагорбовий; деревій подовий; каротиноїди; антиоксидантна активність.**

ВСТУП. За умов сучасного ритму життя і негативного впливу різних факторів середовища в організмі людини спостерігають накопичення пероксидів та посилення вільнорадикального окиснення [1]. Доведено участь вільнорадикальних механізмів у патогенезі атеросклерозу і його

© І. Ф. Дуюн, С. М. Марчишин, 2022.

тромбонекротичних наслідків (інфаркт, інсульт), цукрового діабету, хронічних неспецифічних захворювань легень, захворювань репродуктивної системи, а також зниження клітинного та гуморального імунітету тощо [1–3]. Тому актуальним на сьогодні є пошук нових сполук, здатних пригнічувати вільнорадикальне окиснення на

різних стадіях патологічного процесу. З урахуванням перспектив практичного використання особливу увагу привертають антиоксиданти [3, 4]. Пріоритетним та перспективним є застосування природних біоантиоксидантів як таких, що проявляють менше побічних ефектів. До поширених груп біоантиоксидантів належать жиророзчинні ендogenous антиоксиданти – каротиноїди [4–6].

Каротиноїди – це найпоширеніші в рослинному світі жиророзчинні жовті, оранжеві та червоні пігменти аліфатичної будови. Вони мають виражені антиоксидантні властивості та виконують у живій клітині численні фізіологічні функції: зв'язують синглетний кисень, стабілізують біологічні мембрани, блокують світло УФ-діапазону тощо. Їм притаманна також провітамінна функція – окисний розпад цих сполук у тканинах зумовлює утворення вітаміну А [1, 2, 4].

Основна функція каротиноїдів і в рослинній клітині, і в організмі людини полягає в захисті її структур від ушкоджувальної дії вільних радикалів. В основі антиоксидантної активності каротиноїдів лежить здатність гальмувати процеси пероксидного окиснення мембранних ліпідів і нейтралізувати надлишок накопичення АФК, що є ланками патогенезу оксидативного стресу. Як відомо, оксидативний стрес відіграє провідну роль у виникненні серцево-судинних захворювань – однієї з основних причин передчасної смерті та інвалідності населення [2, 5, 6].

Надзвичайно важливою є також антиканцерогенна активність каротиноїдів. Окрім прямої дії на ракові клітини, вони знижують ступінь розвитку онкологічних хвороб і опосередковано шляхом підвищення імунного захисту організму сприяють синтезу лімфоцитів, які відповідають за імунітет [3, 6].

Отже, каротиноїди відіграють важливу роль в організмі людини та є важливим компонентом раціону її харчування. Організм людини не здатний синтезувати каротиноїди, тому для здійснення біохімічних процесів потрібно, щоб ці сполуки потрапляли з їжею.

З огляду на високу біологічну активність каротиноїдів, доцільними є дослідження перспективних видів роду *Achillea* L. – деревію пагорбового (*Achillea collina* J. Becker ex Reichenb.) і деревію подового (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka) та визначення каротиноїдів у суцвіттях досліджуваних видів. Ці види широко розповсюджені в Україні та мають тривалий період вегетації, тому перспективні для фармакогностичного і фармакологічного вивчення [7].

Мета дослідження – виявити і визначити кількісний вміст каротиноїдів у деревію пагорбо-

вого та деревію подового суцвіттях, заготовлених у різних регіонах України.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Матеріалом для дослідження було деревію пагорбового та деревію подового суцвіття. Сировину збирали на території Запорізької, Дніпропетровської, Херсонської, Миколаївської, Харківської областей протягом вегетаційного періоду (липень – жовтень) у 2019–2020 рр. Якісний склад каротиноїдів встановлювали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинах “Silufol UF-254” (“Avalier”, Чехія), використовуючи рухомі фази – гексан – ацетон (95:5), гексан – бензол – ацетон (1:1:1) і стандартні зразки β-каротину, лютеїну і зеаксантину [8, 9]. Хроматограми висушували на сушарці для хроматографічних пластин “УСП-2” за температури 30 °С.

Для визначення кількісного вмісту суми каротиноїдів застосовували метод УФ-спектроскопії [9]. Методика визначення: близько 5,0 г (точна наважка) рослинної сировини (d=0,3 мм) вносили в колбу ємністю 100 мл, додавали 70 мл ацетону, нагрівали на водяній бані БВ-4 “MICRO med” (t=50 °С) протягом 30 хв при ретельному перемішуванні. Одержані витяжки фільтрували в мірні колби ємністю 100 мл. Операцію повторювали ще двічі за таких же умов. Розчини об'єднували, охолоджували, фільтрували і доводили об'єм розчину ацетоном до мітки. У мірну колбу ємністю 25 мл вносили 10 мл розчину і доводили тим же розчинником до мітки.

Вимірювали оптичну густину на спектрофотометрі “Specord-200 UV/Vis Lambda 365 (Analytic Jena)” за довжини хвилі λ=450–479 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували β-каротин (“LGC Standards”, Англія).

Кількісний вміст суми каротиноїдів (мг %) у перерахунку на β-каротин і абсолютно суху сировину розраховували за формулою:

$$X = \frac{A_1 \times 0,00208 \times 100,0 \times 25,0 \times 100,0 \times 100,0}{A_0 \times m \times 10,0 \times (100,0 - W)},$$

де A_1 – оптична густина досліджуваного естерного розчину;

0,00208 – кількість β-каротину, ідентична забарвленню 1 мл стандартного зразка калію дихромату, мг;

A_0 – оптична густина стандартного зразка калію дихромату;

m – наважка рослинної сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Для приготування розчину стандартного зразка калію дихромату використовували близько 0,0900 г (точна наважка) калію дихромату, поміщали в мірну колбу ємністю 250 мл, розчи-

няли у воді очищеній і доводили об'єм розчину тим же розчинником до мітки. Отриманий розчин за забарвленням відповідав розчину, що містив 0,00208 мг β-каротину в 1 мг.

Результати дослідження розраховували із застосуванням стандартного статистичного пакета ліцензійної програми STATISTICA® for Windows 6.0 (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а також SPSS 16.0, Microsoft Office Excell 2003.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Методом ТШХ у досліджуваних об'єктах було ідентифіковано речовини, що належать до каротиноїдів (речовина 1: Rf=0,73, бурого забарвлення в УФ-ділянці; речовина 2: Rf=0,90, помаранчевого забарвлення в УФ-ділянці).

Для ідентифікації сполук проводили також УФ-спектроскопію естерних витяжок з досліджуваної рослинної сировини. Для порівняння використовували стандартний зразок розчину β-каротину (10 мкг/мл) і лютеїну (10 мкг/мл). При порівнянні спостерігали ідентичність максимумів

поглинання сполук (λ нм) при 412–418, 433–444, 470–479 нм. Характер отриманих максимумів поглинання УФ-спектрів витяжок підтверджує присутність β-каротину (рис.).

Одержані дані щодо кількісного вмісту суми каротиноїдів у *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb та *Achillea micranthoides* Klok суцвіттях у перерахунку на β-каротин наведено в таблиці.

Результати дослідження показали, що кількісний вміст суми каротиноїдів у деревію пагорбового суцвіттях був у межах 13,72–16,28 мг %, у деревію подового суцвіттях – у межах 15,34–17,22 мг %. Кількісний вміст суми каротиноїдів переважно (крім сировини, яку заготовляли у м. Лозова Харківської області) був вищим у деревію пагорбового суцвіттях. Найбільший кількісний вміст суми каротиноїдів спостерігали у деревію подового суцвіттях, заготовлених у м. Генічеськ Херсонської області ((17,22±2,89) мг %), дещо менший – у деревію пагорбового суцвіттях, заготовлених у м. Лозова Харківської області ((16,28±2,75) мг %).

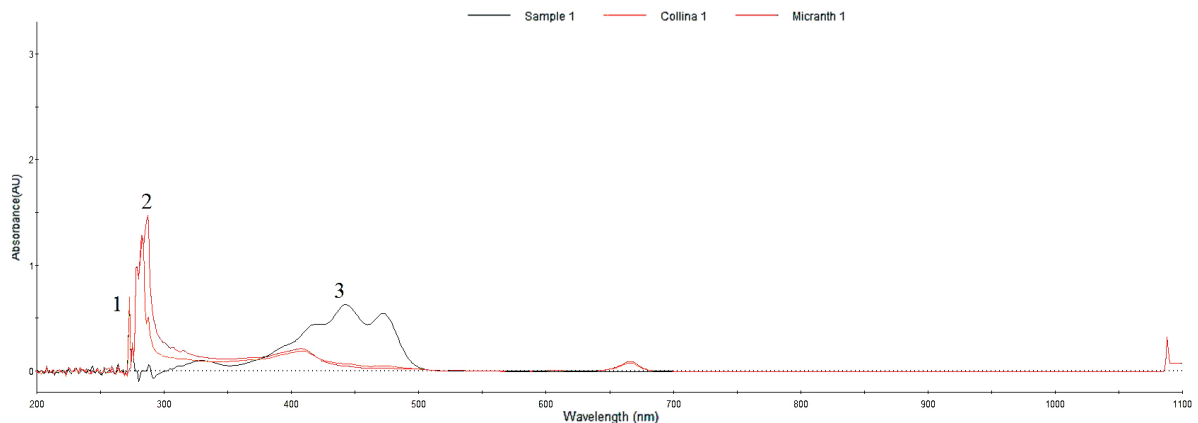


Рис. УФ-спектри поглинання: 1 – естерні витяжки з *A. collina* L. суцвітть (1:50); 2 – естерні витяжки з *A. micranthoides* L. суцвітть (1:50); 3 – розчин стандартного зразка β-каротину в естері (10 мкг/мл).

Таблиця – Кількісний вміст суми каротиноїдів у суцвіттях видів роду *Achillea* L. (x±Δx), мг %, n=6

Місце заготівлі	Кількісний вміст, мг %	
	деревію пагорбового	деревію подового
Запорізька обл., м. Славгород, 2019 р.	14,83±2,80	15,50±2,78
Дніпропетровська обл., м. Синельникове, 2019 р.	15,22±2,89	16,51±2,76
Херсонська обл., м. Генічеськ, 2019 р.	15,93±2,33	17,22±2,89
Миколаївська обл., м. Олександрівка, 2020 р.	13,72±2,67	16,86±2,72
Харківська обл., м. Лозова, 2020 р.	16,28±2,75	15,87±3,12
м. Запоріжжя, 2019 р.	14,69±2,87	15,34±2,53

ВИСНОВКИ. 1. Методом ТШХ у деревію пагорбового та деревію подового суцвіттях ідентифіковано каротиноїди.

2. Встановлено, що кількісний вміст суми каротиноїдів у деревію пагорбового суцвіттях, заготовлених у різних регіонах, був у межах

13,72–16,28 мг %, у деревію подового суцвіттях – у межах 15,34–17,22 мг %.

3. Враховуючи наявність у каротиноїдів антиоксидантних властивостей (за даними літератури), важливим є подальше дослідження сировини видів роду *Деревій* з метою створення нових лікарських засобів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Carotenoids and cardiovascular health / S. Voutilainen, T. Nurmi, J. Mursu [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2006. – No. 83 (6). – P. 1265–1271.

2. Bunea A. Lutein esters from *Tagetes erecta* L.: Isolation and Enzymatic Hydrolysis / A. Bunea // *Bul. UASVM Anim. Sci. Biotechnol.* – 2008. – **65**, No. (1-2). – P. 410–414. <http://dx.doi.org/10.15835/buasvmcn-asb:65:1-2:1147>.

3. Сімонова М. Каротиноїди: будова, властивості та біологічна дія / М. Сімонова // *Біологічні Студії.* – 2010. – **4**, № 2. – С. 159–170.

4. Pérez-Gálvez A. Carotenoids and Chlorophylls as Antioxidants / A. Pérez-Gálvez, I. Viera, M. Roca // *Antioxidants.* – 2020. – **9**, No. 6. – P. 505. <https://doi.org/10.3390/antiox9060505>.

5. Eldahshan O. A. Carotenoids / O. A. Eldahshan, A. N. B. Singab // *J. Pharmacogn. Phytochem.* – 2013. – **2**, No. 1. – P. 225–234.

6. Оценка антиоксидантных свойств водных настоев некоторых лекарственных растений и природных лигнанов / А. А. Лапин, М. Ф. Борисенков, А. П. Карманов [и др.] // *Растительные ресурсы.* – 2008. – **44**, № 1. – С. 136–141.

7. Сербін А. Г. Фармацевтична ботаніка : підручник / А. Г. Сербін, Л. М. Сіра, Т. О. Слободянюк. – Вінниця : Нова Книга, 2015. – 488 с.

8. Чечета О. В. Методика определения каротиноидов методом хроматографии в тонком слое сорбента / О. В. Чечета, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин // *Сорбционные и хроматографические процессы.* – 2008. – **8**, № 2. – С. 320–326.

9. Спектрофотометрический метод определения содержания каротинов, ксантофиллов и хлорофиллов в экстрактах семян растений / О. В. Булда, В. В. Рассадина, Г. Н. Алексейчук, Н. А. Ламан // *Физиология растений.* – 2008. – **55**, № 4. – С. 604–611.

REFERENCES

1. Voutilainen, S., Nurmi, T., & Mursu, J. (2006). Carotenoids and cardiovascular health. *Am. J. Clin. Nutr.*, 83 (6), 1265-1271.

2. Bunea, A. (2008). Lutein esters from *Tagetes erecta* L.: Isolation and Enzymatic Hydrolysis. *Bul. UASVM Anim. Sci. Biotechnol.*, 65 (1-2), 410-414. DOI: 10.15835/buasvmcn-asb: 65:1-2:1147.

3. Simonova, M. (2010). Carotenoids: their structure, properties and biological action. *Biol. Studies*, 4 (2), 159-170. DOI: 10.30970/sbi.0402.127 [in Ukrainian].

4. Pérez-Gálvez, A., Viera, I., & Roca, M. (2020). Carotenoids and Chlorophylls as Antioxidants. *Antioxidants*, 9 (6), 505. DOI: 10.3390/antiox9060505.

5. Eldahshan, O.A., & Singab, A.N.B. (2013). Carotenoids. *J. Pharmacogn. Phytochem.*, 2 (1), 225-234.

6. Lapin, A.A., Borisenkov, M.F., Karmanov, A.P., Berdnik, I.V., Kocheva, L.S., Musin, R.Z., & Magdeev, I.M. (2008). Evaluation of antioxidant properties of water infusions of some medicinal plants and natural lignans. *Plant Resources*, 55 (4), 136-141 [in Russian].

7. Serbin, A.H., Sira, L.M., & Slobodianiuk, T.O. (2015). *Pharmaceutical botany: textbook*. Vinnytsia: Nova Knyha [in Ukrainian].

8. Checheta, O.V., Safonova, Y.F., & Slivkin, A.I. (2008). Method for determination of carotenoids by chromatography in a thin layer of sorbent. *Sorption and Chromatographic Processes*, 8 (2), 320-326 [in Russian].

9. Bulda, O.V., Rassadina, V.V., Alekseychuk, G.N., & Laman, N.A. (2008). Spectrophotometric method for determining the content of carotenes, xanthophylls and chlorophylls in plant seed extracts. *Physiology of Plants*, 55 (4), 604-611 [in Russian].

DETERMINATION OF CAROTENOID CONTENT IN INFLORESCENCES OF *ACHILLEA COLLINA* AND *ACHILLEA MICRANTHOIDES*

Summary

Introduction. The search for new compounds capable of inhibiting free radical oxidation at various stages of the pathological process is relevant today. Taking into account the prospects of practical use, antioxidants attract special attention. Priority and perspective is the use of natural bioantioxidants as those that have fewer side effects. Common groups of bioantioxidants include fat-soluble endogenous antioxidants – carotenoids, which have pronounced antioxidant properties. The main function of carotenoids in plant cells and the human body is to protect its structures from the damaging effects of free radicals. Given the high biological activity of carotenoids, it is advisable to study promising species of the genus *Achillea* L. – *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb. and *Achillea micranthoides* Klok. Et Krytzka, which are widespread in Ukraine, have a long vegetation period, are promising for pharmacognostic and pharmacological study.

The aim of the study – to identify and quantify the content of carotenoids in inflorescences of *Achillea collina* and *Achillea micranthoides* harvested in different regions of Ukraine.

Research Methods. Inflorescences of *Achillea collina* and *Achillea micranthoides* were the material for the study. Raw materials were collected on the territory of Zaporizhzhia, Dnipropetrovsk, Kherson, Mykolaiv, Kharkiv regions during the growing season (July–October) in 2019–2020. The qualitative composition of carotenoids was determined by thin layer chromatography (TLC) on plates “Silufof UF-254” (“Avalier”, Czech Republic), using the mobile phases – hexane – acetone (95:5), hexane – benzene – acetone (1:1:1) and standard samples of β -carotene, lutein, zeaxanthin. To determine the quantitative content of the sum of carotenoids we used the method of UV spectroscopy, measuring the optical density on a spectrophotometer “Specord-200 UV/Vis Lambda 365 (Analytic Jena” at wavelengths $\lambda=450–479$ nm in a cuvette with a layer thickness of 10 mm. *B*-carotene and lutein (LGC Standards, England) were used as a reference solution.

Results and Discussion. The TLC method identified substances belonging to carotenoids (substance 1: $R_f=0.73$, brown in the UV area; substance 2: $R_f=0.90$, orange in the UV area). The quantitative content of the amount of carotenoids in inflorescences of *Achillea collina* was in the range of 13.72–16.28 mg %, in inflorescences of *Achillea micranthoides* – in the range of 15.34–17.22 mg %. The highest quantitative content of the amount of carotenoids was observed in inflorescences of *Achillea collina* harvested in Henichesk, Kherson region (17.22±2.89) mg %, slightly lower – in inflorescences of *Achillea micranthoides* harvested in Lozova, Kharkiv region (16.28±2.75) mg %.

Conclusions. Carotenoids were identified by TLC in inflorescences of *Achillea collina* and *Achillea micranthoides*. It was found that the quantitative content of the amount of carotenoids in inflorescences of *Achillea collina* harvested in different regions was in the range of 13.72–16.28 mg %, in inflorescences of *Achillea micranthoides* – in the range of 15.34–17.22 mg %. Given the presence of carotenoids with antioxidant properties (according to the literature), it is important to further study the raw materials of the genus *Achillea* in order to create new drugs.

KEY WORDS: *Achillea collina*; *Achillea micranthoides*; carotenoids; antioxidant activity.

Отримано 17.02.22

Адреса для листування: С. М. Марчишин, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: marchyshyn@tdmu.edu.ua.