

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

Фармацевтичний факультет
Кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
Марчишин Світлана
Михайлівна

«__» _____ 2022р.

УДК 615.074:582.998.16

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

На тему:
ФІТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ЧОРНОБРИВЦІВ ЗОЛОТИСТИХ

Виконала студентка 5 курсу
денної форми навчання
спеціальності “Фармація, промислова фармація”

Валько Тетяна Вікторівна

Науковий керівник:
доктор фармацевтичних наук, професор
Марчишин Світлана Михайлівна

ТЕРНОПІЛЬ 2022

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ У ТРАДИЦІЙНІЙ І ДОКАЗОВІЙ МЕДИЦИНІ РОСЛИН РОДУ ЧОРНОБРИВЦІ (огляд літератури)	9
1.1 Ботанічна характеристика рослин роду Чорнобривці.....	9
1.2 Хімічний склад рослин роду Чорнобривці	10
1.3 Застосування рослин роду <i>Tagetes</i> L. у традиційній та доказовій медицині, в косметології та різних галузях народного господарства	14
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	18
2.1 Виявлення біологічно активних речовин у сировині чорнобривців золотистих	18
2.1.1 Виявлення та визначення кількісного вмісту флавоноїдів	18
2.1.2 Гідроксикоричні кислоти.....	19
2.1.3 Визначення фенольних сполук методом ВЕРХ.....	20
2.1.4 Визначення суми фенольних сполук.....	22
2.2. Визначення органічних кислот	23
2.3 Визначення летких сполук	25
РОЗДІЛ 3 ЯКІСНИЙ СКЛАД І КІЛЬКІСНИЙ ВМІСТ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У СИРОВИНІ ЧОРНОБРИВЦІВ ЗОЛОТИСТИХ (<i>TAGETES LUCIDA</i> CAV.)	27
3.1. Якісний аналіз біологічно активних речовин чорнобривців золотистих..	27
3.2 Визначення флавоноїдів	28
3.3 Визначення гідроксикоричних кислот.....	33
3.4 Вміст суми фенольних сполук у сировині чорнобривців золотистих.....	37
3.5 Вміст органічних кислот.....	38
3.6 Дослідження летких сполук.....	41

ВИСНОВКИ	49
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	51
ДОДАТКИ	59

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР – біологічно активні речовини;

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;

ГХ/МС – газова хроматографія з мас-спектрометричним детектором;

ДФУ – Державна Фармакопея України;

ЛРС – лікарська рослинна сировина;

ОК – органічні кислоти;

ПХ – паперова хроматографія;

ТШХ – тонкошарова хроматографія;

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Незважаючи на значний прогрес сучасної фармації і медицини та щорічне збільшення кількості нових синтетичних лікарських засобів, популярність лікарських засобів, що містять біологічно активні речовини (БАР) рослин, з кожним роком зростає. Попит на лікарську рослинну сировину (ЛРС) для виробництва нових лікарських препаратів постійно збільшується.

Підвищений попит на сучасні рослинні препарати та тенденція до ширшого їх використання в медичній практиці обумовлено тим, що препарати рослинного походження мають ефективніший та значно ширший спектр дії на організм у порівнянні з синтетичними препаратами. Вони широко застосовуються при комплексному лікуванні різних захворювань, відрізняються низькою токсичністю, м'якістю та надійністю дій, вони легко засвоюються організмом людини, їх можна тривалий час використовувати без ризику виникнення побічних явищ. Препарати лікарських рослин значно краще, ніж хімічні, пристосовані до біохімічних процесів, які протікають в організмі людини. Різні за природою БАР, що містяться в рослинах, забезпечують розмаїття фармакологічних ефектів.

В Україні близько 52 % усіх лікарських засобів виготовляється на основі рослинної сировини, а також є достатні сировинні ресурси дикорослих та культивованих лікарських рослин, щоб забезпечити подальший розвиток створення та виробництва вітчизняних рослинних препаратів.

Перспективним джерелом одержання нових рослинних препаратів є види роду Чорнобривці (*Tagetes*) з родини айстрові (*Asteraceae*), які містять значну кількість БАР. Види чорнобривців широко культивують в Україні як технічну та декоративну рослину. Лікувальні властивості чорнобривців використовуються в традиційній і доказовій медицині.

Одним із маловивчених видів роду *Tagetes* є чорнобривці золотисті (чорнобривці анісові, естрагон мексиканський – *Tagetes lucida* Cav.), які в Україні ввели в культуру науковці відділу квітниково-декоративних рослин Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України (м. Київ)

У наукових публікаціях відсутні відомості про вміст БАР у чорнобривців золотистих квітках, листках, стеблах, коренях і насінні, тому метою наших досліджень стало вивчення досліджуваної сировини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Наукова робота виконана в рамках науково-дослідної програми кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України «Пошук нових видів лікарських рослин, фармакогностичне та фармакологічне обґрунтування ефективності їх біологічно активних речовин" (номер Державної реєстрації 0118 U004982).

Мета та завдання дослідження. Метою досліджень було провести порівняльний фітохімічний аналіз чорнобривців золотистих трави, квіток, листків, стебел, коренів і насіння.

Для досягнення даної мети були поставлені наступні завдання:

- проаналізувати джерела літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, фармакологічної дії рослин роду Чорнобривці;
- здійснити фітохімічні дослідження чорнобривців золотистих трави, квіток, листків, стебел, коренів і насіння та провести їх порівняльний аналіз;
- визначити кількісний вміст біологічно активних речовин у чорнобривців золотистих трави, квітках, листках, стеблах, коренях і насінні;
- встановити якісний склад і кількісний вміст компонентів летких сполук чорнобривців золотистих.

Об'єкт дослідження – комплексне фітохімічне дослідження сировини чорнобривців золотистих.

Предмет дослідження. Встановлення якісного складу та визначення кількісного вмісту БАР чорнобривців золотистих трави, квіток, листків, стебел, коренів і насіння.

Методи дослідження. При виконанні досліджень були використані фізичні, хімічні, фізико-хімічні, фітохімічні, математичні (статистична обробка результатів) методи.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведено фітохімічне дослідження цінної лікарської рослини, вперше інтродукованої в Україні, – чорнобривців золотистих. Проведено вивчення та порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту основних груп БАР трави, квіток, листків, стебел, коренів і насіння досліджуваного виду. Виявлено наявність у досліджуваній сировині сполук фенольної природи – флавоноїдів і гідроксикоричних кислот, а також органічних кислот та ефірної олії. Вперше методом ВЕРХ визначено, ідентифіковано і встановлено кількісний вміст індивідуальних сполук флавоноїдної природи і гідроксикоричних кислот у сировині чорнобривців золотистих. Встановлено, що спільними для усіх досліджуваних видів сировини з флавоноїдів є кверцетин і кемпферол; з гідроксикоричних кислот – хлорогенова і сирінгова кислоти, які можна вважати маркерами даного виду. У коренях чорнобривців золотистих ідентифіковано 17 компонентів летких сполук, у листках – 18, у квітках – 41, у насінні – 35, у стеблах – 3, встановлено їх кількісний вміст. Методом ГХ/МС встановлено наявність у чорнобривців золотистих траві щавлевої, маленової, фумарової, бурштинової, яблучної, лимонної, ванілінової, ізолімонної, сирінгової та ферулової кислот.

Практичне значення одержаних результатів. Обґрунтовано перспективність подальшого дослідження чорнобривців золотистих та використання їх біологічно активних речовин у медицині та фармації.

Обсяг і структура роботи. Наукова робота складається зі вступу, огляду літератури, двох розділів власних досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури та додатків. Обсяг основного тексту наукової роботи складає 50 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 9 таблицями і 17 рисунками. Перелік використаних джерел містить 72 найменування, з яких кирилицею 34, латиною – 38.

РОЗДІЛ 1

БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ У ТРАДИЦІЙНІЙ І ДОКАЗОВІЙ МЕДИЦИНІ РОСЛИН РОДУ ЧОРНОБРИВЦІ (огляд літератури)

1.1 Ботанічна характеристика рослин роду Чорнобривці

Рід Чорнобривці (*Tagetes* L.) родини айстрові (*Asteraceae*) включає до 56 видів однорічних, іноді дворічних рослин та більш ніж 600 форм та сортів. Батьківщиною роду є Південна Америка – від Південної Аризони та Західного Техасу до Аргентини [11, 31]. Види *Tagetes* L. зростають у дикому стані в помірних лісах і гірських районах. В даний час види роду *Tagetes* L. вирощують в країнах Африки, Азії та Європи [70]. На європейському континенті чорнобривці відомі з 1542 року. Багато видів цього роду, наприклад *T. minuta*, *T. erecta*, *T. patula*, *T. tenuifolia*, культивують як декоративні рослини і вивчають їх лікувальні властивості на основі використання в традиційній медицині [50].

Представники роду – теплолюбні рослини, з прямими розгалуженими стеблами. Квітки чорнобривців поодинокі, на циліндричних і дещо роздутих на верхівці квітконосах, мають сильний специфічний запах. Забарвлення суцвіть жовте, оранжеве, червоно-буре та коричнево-буре [2, 34].

З культивованих видів роду Чорнобривці в Україні найчастіше зустрічається три: чорнобривці прямостоячі (*Tagetes erecta* L.), що відомі під назвою африканські або мексиканські, чорнобривці розлогі (*Tagetes patula* L.), відомі як французькі чорнобривці, та чорнобривці тонколисті (*Tagetes tenuifolia* L.) [1, 7]. Останніми роками значну увагу приділяють вивченню чорнобривців дрібноквіткових (*Tagetes minuta* L.) [40, 53] та чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida* Cav.), які вирощують у Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України та Донецькому ботанічному саду НАН України [24].

Усі види культивованих чорнобривців є неофіційними рослинами.

Чорнобривці золотисті (*Tagetes lucida Cav.*) (рис. 1.1) (син. чорнобривці анісові (*Tagetes anisala*))- яскраво-зелена багаторічна трав'яниста рослина, яка утворює розлогі кущики 30-75 см заввишки. Стебла прямостоячі, у верхній частині гіллясті, щільні, ребристі, голі, з пурпуровим відтінком. Листки супротивні, сидячі, від ланцетних до вузьколанцетних, до верхівки звужені, зазвичай тупі, по краю тонкопилчасті. На кінцях стебел розташовані суцвіття – численні кошики, зібрані в плоскі, верхівкові напівзонтики, на дуже коротких квітконіжках. Крайові квітки язичкові, звичайно їх 3-5 штук, широко-ниркоподібні, зі зрізаною, виїмчасто-зубчастою верхівкою, яскраві, світло-золотисто-жовтого кольору. Трубочасті квітки темно-жовті. Цвіте рослина з серпня до заморозків.



Рис. 1.1 Чорнобривці золотисті (*Tagetes lucida Cav.*)

1.2 Хімічний склад рослин роду Чорнобривці

Рослини роду Чорнобривці є перспективним джерелом отримання сучасних фітопрепаратів та дієтичних добавок і останніми роками науковці ряду країн інтенсивно вивчають їх хімічний склад і біологічну активність [10, 22, 30, 45]. Чорнобривці містять більше ніж 100 біологічно активних вторинних

метаболітів: фенілпропаноїдів, похідних тіофену та бензофурану, тритерпеноїдів, стероїдів, алкалоїдів, флавоноїдів, каротиноїдів тощо [21, 31, 58, 62, 70].

Надземна частина усіх видів чорнобривців містить значну кількість ефірної олії, основним компонентом якої є о-цимен (50 %), який має дуже сильну антисептичну та антимікробну дію. Окрім о-цимену, ефірна олія чорнобривців містить ще не менше 40 компонентів (лімонен, терпінен, мірцен з монотерпенових вуглеводнів, тагетон, дигідротагетон, тагетенон з ациклічних монотерпенових кетонів). Лише у складі ефірної олії чорнобривців золотистих і ч. тонколистих переважають фенілпропаноїди, такі як метилевгенол, метилхавікол, анетол, що відрізняє дані види від інших видів роду *Tagetes* L. [70].

В ефірній олії різних видів роду Чорнобривці містяться також сесквітерпени, сесквітерпенові спирти, складні естери, монотерпеноїди та ароматичні сполуки [70]. Ефірна олія надає рослинам роду *Tagetes* L. характерний квітково-базилік-цитрусовий запах. Найбільше її накопичується у фазі цвітіння рослин (надземна частина – 0,30-0,55 %, листки – 0,5-0,7 %, суцвіття – 0,1-0,2 %, стебла – 0,05 %) і фазі бутонізації (надземна частина – 0,22-0,30 %) [58].

Salvaña F. R. [65] у своїй праці інформує, що *Tagetes lucida* Cav. містить такі основні вторинні метаболіти як терпени, кумарини та алкалоїди.

Складовими компонентами ефірних олій двох видів роду *Tagetes*, які інтродуковані в Україні, - *Tagetes signata* і *Tagetes minuta* виявлено тагетон і тагенон (цис- і трансцименони) [28]. В ефірній олії *Tagetes minuta* виявлено значну кількість транс-цимену, ліналоолу, терпінеолу, сабінену, мірцену, лімонену, витралю, терпену, пінену.

Ефірні олії трьох видів роду Чорнобривці (*Tagetes erecta* L., *Tagetes patula* L. та *Tagetes tenuifolia* L.) досліджували на кафедрі фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету. Результати досліджень показали, що ефірна олія *Tagetes erecta* L. трави містить 50 компонентів, з яких ідентифіковано 37, серед яких у значних кількостях виявлено каріофілен (22,38 %), піперитон (8,18 %),

каріофіленоксид (6,33 %). Ефірна олія *Tagetes patula* L. трави містить 49 компонентів, з яких ідентифіковано 33, основними з яких є каріофілен (25,54 %), докозен-1 (8,62 %), гермакрен D (5,95 %), спатуленол (5,58 %). Ефірна олія *Tagetes tenuifolia* L. трави містить 53 компоненти, з них ідентифіковано 31, основними з яких є транс-о-цименон (16,88 %), цис-оцименон (16,49 %), дигідротагетон (14,12 %), цис-тагетон (9,25 %), цис-оцимен (7,54 %) [7].

У Нікітському ботанічному саду при дослідженні ефірної олії нового сорту *Tagetes signata* L. встановлено, що до її складу входять транс-тагетенон, дигідротагетон, транс-тагетон, цис-тагетенон, а також лімонен, сабінен, транс-оцимен, евгенол та ряд мінорних компонентів [1].

Дослідження Г. В. Корнильєва і співавт. [8] показали, що основними леткими компонентами, досліджуваного ними екстракту з квіток *Tagetes signata* L., є *n*-вінілгваякол (50,8 %) і характерний для ефірної олії *Tagetes signata* № 13152-8 «Гілчастий» тагетенон (17,3 %).

Рослини роду *Tagetes* L., крім летких сполук, містять фенольні речовини, що виявляють антиоксидантні властивості: гідроксикоричні кислоти, флавоноїди та їх глікозиди (апігенін, гіперозид, ізокверцетин) [30, 51].

Дослідження С. П. Машковської показали, що листки і суцвіття видів *Tagetes* L. містять кверцетин-3-глікозид (суцвіття), кверцетин-3-рутинозид (листки), кверцетин, кверцетин-пентаацетат, кемпферол, морин, кверцитрин, кверцетагенин, рутин (суцвіття) [26, 27]. У траві, культивованих в Україні, видів роду Чорнобривці виявлено ряд БАР первинного синтезу – полісахариди, жирні кислоти, амінокислоти [5, 6]; у суцвіттях – каротиноїди: лютеїн, кантоксантин, ізозеаксантин, геленієн, ізоксетиверин, α - і β -каротин [9, 21], лікопін, рубоксантин, рубіхром, вітаміни А, В₁, В₂, С, Е, Р [18]. Рослини роду *Tagetes* L., зокрема видів *T. erecta* L. і *T. patula* L., містять високі концентрації каротиноїдів (α - і β -каротин, зеаксантин, азозеаксантин, лютеїн) [12, 39].

Бердей Т. С. встановлено, що у траві чорнобривців прямостоячих міститься 17 амінокислот у зв'язаному стані і 13 у вільному, з них 7 є

незамінними; у траві чорнобривців розлогих і чорнобривців тонколистих – по 16 амінокислот у зв'язаному стані і по 15 і 12, відповідно, у вільному. Переважаючими в усіх видів чорнобривців є моноамінодикарбонові кислоти – глютамінова та аспарагінова [4].

У траві видів роду *Tagetes* виявлено 15 елементів: 6 макро- і 9 мікроелементів. В усіх видів спостерігається значний вміст Ca, Mg, K, Na, P і Si [3].

Ряд іноземних вчених вивчали одного з предствників роду *Tagetes* L. – чорнобривці золотисті (*Tagetes lucida*) [43, 57, 65, 67]. У ефірній олії *Tagetes lucida* було виявлено тридцять сполук, з яких основним компонентом був метилхавікол (естрагол) (95-97 %). Також було ідентифіковано анетол, ліналоол, метилевгенол і евгенол. Мексиканський естрагон (чорнобривці золотисті) містить тіофени, похідні кумарину, інозит, дубильні речовини [43, 65]. Villa-Silva P.Y. et al. [57] методом ВЕРХ/МС в екстрактах з надземні частини *Tagetes lucida* ідентифікували сім кумаринів: 7,8-дигідроксикумарин, умбеліферон (7-гідроксикумарин), скопарон (6,7-диметоксикумарин), ескулетин (6,7-дигідроксикумарин), 6-гідрокси-7-метоксикумарин, герніарин (7-метоксикумарин) і скополетин (6-метокси7-гідроксикумарин) і три флавоноїди: патулетин, кверцетин і кверцетагетин. Методом ГХ/МС виявлено в ефірній олії *Tagetes lucida* наявність геранілацетату, гераніолу і β -кариофілену та встановлено їх кількісний вміст – 49,89 %, 7,92 %, 6,27 % відповідно [63].

1.3 Застосування рослин роду *Tagetes* L. у традиційній та доказовій медицині, в косметології та різних галузях народного господарства

Останні роки рослини роду *Tagetes* L. привертають увагу світової наукової спільноти завдяки вмісту БАР широкого спектра дії, серед яких каротиноїди, флавоноїди, амінокислоти, органічні кислоти, дубильні речовини, ефірні олії.

Традиційно, багато видів роду *Tagetes* L. використовуються для лікування різних захворювань по всьому світу. У Бангладеш листя *Tagetes patula* застосовують зовнішньо при фурункулах і карбункулах; у вигляді чаїв – при захворюваннях нирок, болях у м'язах, при геморої [61, 70]. У Пакистані як листя, так і квітки використовують як жарознижувальний [56] та протикашлевий [52] засіб. У Болівії настій *Tagetes minuta* використовується як тонізуючий, в Бразилії – як заспокійливий засіб перед сном [70]. У різних регіонах Мексики *Tagetes lucida* здавна відомий ацтекам як засіб від гарячки та епілепсії. У традиційній медицині Мексики чорнобривці використовують для лікування захворювань і порушень у функції печінки, під час кольок, діареї, шкірних захворювань [12].

В Індії соком з квіток лікують екзему. *Tagetes lucida* також рекомендують як стимулятор імунної системи, при інфекціях, викликаних гельмінтами і найпростішими [70]. Маврикійці рекомендують відвар квіток *Tagetes lucida* при болях в животі, при лікуванні захворювань системи кровообігу, і при жовтяниці новонароджених, для годуючих матерів [66]. Латиноамериканське населення використовує чорнобривці для лікування шлунково-кишкових розладів [65].

У традиційній медицині настій трави чорнобривців застосовують для лікування жіночої безплідності; настої і відвари з різних частин чорнобривців – для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту, інфекційних захворювань, як жовчогінні та сечогінні засоби [10, 53, 59] Екстракти квіток чорнобривців розлогих виявляють гепатозахисну, холеретичну, знеболювальну, бактерицидну, ранозагоювальну, протизапальну дії [13].

Екстракти та біологічно активні речовини, отримані з чорнобривців, є перспективними для застосування у медицині та виявляють в експерименті антиоксидантні, протигрибкові, протимікробні, гепатопротекторні, протипаразитарні та ранозагоювальні властивості [12].

Найчастіше у медичній практиці застосовують ефірну олію чорнобривців – у складі кремів і мазей для спортивного масажу при

розтягуванні м'язів і сухожиль, оскільки є хорошим знеболюючим засобом; для зниження артеріального тиску, загоювання ран, порізів на шкірі, розм'якшення затвердіння і мозолів, при лікуванні грибкових захворювань. Запах чорнобривців в аромолампах рекомендують використовувати при лікуванні неврозів, депресій, невпевненості, розсіяності, циститів, уретритів, затримці сечовипускання, гельмінтозів [63]. Ефірна олія чорнобривців є сильним снодійним засобом. Вона має виражену антибактеріальну активність та антиоксидантну дію [41, 63, 65].

Ефірна олія *Tagetes lucida* також проявляє цитотоксичну [43], антибактеріальну [67], протизапальну, антиноцицептивну [63], анксиолітичну, седативну [69], антидепресивну [35] дію. Каріофілен, виділений з ефірної олії чорнобривців золотистих, проявляє знеболювальну активність [63].

Ефірну олію застосовують у харчовій промисловості для приготування кондитерських виробів, у лікєро-горілчаному виробництві. Особливо широко використовують ефірну олію в парфумерній та косметичній промисловості, миловарному виробництві.

Своїм лікувальним властивостям чорнобривці завдячують не лише ефірним оліям, а й таким біологічно активним речовинам як каротиноїди, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, вітаміни та полісахариди, що містяться в них [4].

Флавоноїди квіток чорнобривців за властивостями аналогічні вітаміну Р. Флавоноїд патулітин, виділений з чорнобривців розлогих, знижує проникність капілярів в більшій мірі, ніж кверцетин, і має гіпотензивну дію. Флавоноїд – геленієн із суцвіть чорнобривців застосовують для корекції сітківки ока [14].

Флавоноїди *Tagetes* spp. сьогодні визнані протиалергічними, протизапальними, противірусними, антипроліферативними та антиканцерогенними речовинами. Настояї, настойки та сік із надземних частин *Tagetes* spp. використовуються як традиційні харчові добавки в усьому світі [70].

Каротиноїди рослин роду Чорнобривці вивчав Verghese J. [72], який вважав чорнобривці джерелом природних каротиноїдів і що пігменти чорнобривців мають потенціал натуральних харчових барвників. Висушені квіти *T. erecta* містять 0,1-0,2 % каротиноїдів у сухій речовині, з яких 80 % естери лютеїну [54].

Науковцями П'ятигорської державної фармацевтичної академії встановлена гепатозахисна активність олійного екстракту і спиртової витяжки із квіток чорнобривців розлогих [31, 43].

Samah Ali El-Newary et al. [49] доказали потужну гепатопротекторну активність етанольного екстракту коренів *T. lucida*.

Guadarrama-Cruz G. et al. [35] встановили антидепресантну дію водного екстракту *Tagetes lucida* при пероральному введенні.

Українські вчені вивчали протимікробну та протигрибкову активності ефірної олії суцвіть *Tagetes erecta plena* L. varieties «Hawaii» на клінічних та музейних штамах мікроорганізмів методом паперових дисків. Встановлено, що ефірна олія має виражену бактеріостатичну і мікостатичну активність [19].

У наш час використовують фітопрепарати з різних видів чорнобривців.. Серед відомих препаратів чорнобривців – Лютеїн (капсули 476 мг, Реал Капс, Росія) та Lutein (капсули 0,41 г, Nahrin, Швейцарія), вітамінні комплекси Алфавіт 50+ (таблетки, Внешторг Фарма, Росія), Віталюкс Плюс (капсули 669 мг, Catalent Pharma Solutions, Італія), Вітрум® Віжн (таблетки у оболонці, Unifarm Inc., США), комплекс для очей Лютеїн-Максимум (капсули 450 мг, Yunaiko Company, Японія) та ін. [19, 21, 31,]

Пігменти чорнобривців мають потенціал натуральних харчових барвників. Квітки та їх екстракти багаті на оранжеві/жовті каротиноїди [8, 11]. Фарбою, отриманої з квіток чорнобривців, фарбують у жовтий колір сири, масло, кулінарні вироби, вина і фруктові води [68]. В їжу використовують висушені і помолоті в порошок квіткові кошики [20].

Чорнобривці виявляють бактерицидну та фунгіцидну активність [44, 70]. Виділення з коренів чорнобривців зменшують ураження інших рослин грибними захворюваннями і особливо фузаріозом, захищають від деяких видів нематод [70].

Види роду Чорнобривці культивується як декоративна рослина у всьому світі і є надзвичайно популярні в ландшафтній архітектурі [44, 20, 70]. Вони використовуються для квітчання клумб, рабаток, квіткових груп, озеленення балконів та створення колоритних композицій на відкритому просторі і в горщиках.

Застосування чорнобривців у кулінарії і лікувальних цілях, як правило, не має протипоказань, втім, під час вагітності використання ефірної олії цієї рослини небажано. У деяких людей може спостерігатися індивідуальна непереносимість до компонентів ефірної олії, внаслідок чого нерідко виникають алергічні реакції.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Матеріалом для досліджень були трава, стебла, квітки, листки, корені та насіння чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida* Cav.), які заготовляли на дослідних ділянках відділу квітничково-декоративних рослин Національного ботанічного саду ім. М. М. Гришка НАН України. Траву (стебла, листки, квітки) і корені заготовляли у липні-серпні 2021 року в період масового цвітіння рослин, насіння – при його дозріванні у серпні-вересні.

2.1 Виявлення біологічно активних речовин у сировині чорнобривців золотистих

Для проведення якісних реакцій на флавоноїди і гідроксикоричні кислоти та їх хроматографічного аналізу готували етанольно-водні вижяжки витяжки з стебел, квіток, листків, коренів та насіння чорнобривців золотистих

2.1.1 Виявлення та визначення кількісного вмісту флавоноїдів

З метою виявлення флавоноїдів вивчали етанольно-водну витяжку, яку використовували для проведення якісних реакцій та хроматографічного аналізу.

- 1) ціанідінова проба: до 1 мл екстракту додавали по 2-3 краплі хлористоводневох кислоти і щіпку порошку металічного магнію;
- 2) реакція з лугом: до 1 мл екстракту додавали 1-2 краплі 10 % етанольно-водного розчину калій гідроксиду;
- 3) реакція з ферум (III) хлоридом: до 1 мл екстракту додавали 1-2 краплі 10 % розчину ферум (III) хлориду;
- 4) реакція з плюмбум ацетатом: до 1 мл екстракту додавали 3-5 крапель

10 % розчину плюмбум ацетату [15, 29].

Хроматографічний аналіз. Наявність флавоноїдів визначали методом ПХ (папір Filtrak FN № 4) і ТШХ (хроматографічні пластинки “Сорбфіл” (*Sorbfil peates* 10x15, Росія)), використовуючи як рухому фазу н-бутанол-ацетатна кислота-вода (4:1:2) і 15 % розчин ацетатної кислоти та стандартні зразки флавоноїдів: рутин, ізокверцитрин, апігенін, кемпферол, кверцетин, лютеолін та гіперозид. Аналіз хроматограм проводили в УФ-світлі за довжини хвилі 366 нм до та після обробки парами аміаку.

Кількісний вміст суми флавоноїдів визначали у перерахунку на рутин за методикою ДФУ 2.0 [15].

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин і абсолютно суху сировину, у відсотках, обчислювали за формулою 2.1:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 30 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times (100 - W) \times 100}, \quad (2.1)$$

де: A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина ФСЗ рутину;

m – маса наважки сировини, г;

m_0 – маса наважки ФСЗ рутину, г;

W – втрати в масі при висушуванні сировини, % [25, 46].

2.1.2 Гідроксикоричні кислоти

Виявлення гідроксикоричних кислот проводили використовуючи етанольно-водну витяжку сировини чорнобривців золотистих.

Реакція з ферум (III) хлоридом. До 1 мл екстракту додавали 2 краплі 1 % розчину ферум (III) хлориду.

Гідроксикоричні кислоти також ідентифікували методом ТШХ і ПХ, використовуючи рухому фазу н-бутанол-кислота ацетатна-вода очищена Р

(4:1:2). Для хроматографування використовували хроматографічні пластинки “Сорбфіл” (*Sorbfil peates* 10x15, Росія) і папір для хроматографічного аналізу Filtrak FN № 4 [5] та стандартні зразки хлорогенової, кофейної, ферулової, розмаринової і *p*-кумарової кислот.

Кількісне визначення гідроксикоричних кислот у сировині чорнобривців золотистих ґрунтується на спектофотометричному методі [23].

Вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та абсолютно суху сировину у відсотках (*X*) обчислювали за формулою 2.2:

$$X = \frac{A \times 250 \times 50 \times 100}{E^{1\%}_{1cm} \times m \times 1 \times (100 - W)}, \quad (2.2)$$

де, *A* – оптична густина досліджуваного розчину;

250 – об’єм розчину, мл;

m – маса сировини, г;

$E^{1\%}_{1cm}$ – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти (531);

W – втрата в масі при висушуванні, % [23].

2.1.3 Визначення фенольних сполук методом ВЕРХ

Визначення і встановлення кількісного вмісту індивідуальних фенольних сполук (флавоноїдів і гідроксикоричних кислот) у траві, квітках, листках, коренях і насінні чорнобривців золотистих проводили також методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

Флавоноїди.

Хроматографічне визначення флавоноїдів проведено на рідинному високоефективному хроматографі Agilent Technologies 1200. Як рухому фазу використовували ацетонітрил (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елюювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – А (5 %) : В (95 %); 20 хв – А (30 %) : В (70 %); 30 хв – А (60 %) : В (40 %); 50 хв – А (100 %) : В

(0 %); 60 хв – А (100 %) : В (0 %). Розділення здійснювали 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 термостата – 30 °С, об'єм інжекції – 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу за довжини хвиль 280 нм і 365 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [60].

Ідентифікацію та кількісний аналіз індивідуальних флавоноїдів проводили з використанням стандартних зразків (рутину, кверцетин-3-*b*-глікозиду, нарінгіну, неогесперідину, кверцетину, нарінгеніну, кемпферолу, лютеоліну, апігеніну). Калібрування проводили методом зовнішніх стандартів.

Кількісний вміст індивідуальних флавоноїдів (X) (мкг/г) визначали за формулою 2.3:

$$X = c \cdot V / m, \quad (2.3)$$

де *c* – концентрація сполуки, визначена хроматографічним методом, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, з якої проводили екстракцію, г.

Гідроксикоричні кислоти.

Визначення якісного складу і кількісного вмісту гідроксикоричних кислот проводили на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200. Як рухому фазу 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 здійснювали на хроматографічній колонці Zorbax SB-Aq (4,6 мм±150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку становила 0,5 мл/хв, температура термостата – 30 °С, об'єм інжекції – 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-

матричного детектора з реєстрацією сигналу при 250 нм і 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [16, 42].

Ідентифікацію та кількісний аналіз індивідуальних гідроксикоричних кислот проводили з використанням стандартних зразків фенольних сполук (галової, гідроксифенілацетатної кислоти, хлорогенової, кофеїної, сирінгової, *p*-кумарової, ферулової, синапової, цинамової, хінної кислот).

Вміст гідроксикоричних кислот (X) (мкг/г) визначали за формулою 2.4:

$$X = c \cdot V / m, \quad (2.4)$$

де c – концентрація сполуки, визначена хроматографічним методом, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, з якої проводили екстракцію, г.

Індивідуальні сполуки фенольної природи ідентифікували за результатами часів утримання та порівнянням одержаних спектрів з УФ-спектрами стандартних зразків. Розрахунок концентрацій здійснювали за градуовальною характеристикою (залежність площі хроматографічного піка від масової концентрації стандартного зразка).

2.1.4 Визначення суми фенольних сполук

Визначення вмісту суми фенольних сполук у досліджуваних об'єктах проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту.

Вміст суми фенольних сполук (X , %) у перерахунку на галову кислоту та абсолютно суху сировину розраховували за формулою 2.5:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 1 \times 30 \times 50 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times 50 \times 1 \times 100 \times (100 - W)}, \quad (2.5)$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_o – оптична густина СФЗДФУ галової кислоти;

m – маса наважки сировини, г;

m_o – маса наважки ФСЗДФУ галової кислоти, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

2.2. Визначення органічних кислот

Для виявлення органічних кислот використовували водні витяжки досліджуваної сировини [15].

Встановлення якісного складу органічних кислот у досліджуваній сировині проводили методом ТШХ у системі розчинників: 95 % етанол Р-хлороформ-концентрований розчин амоніаку-вода очищена Р (70:40:20:2). Достовірними зразками були молочна, бурштинова, лимонна, ацетатна, винна, яблучна, саліцилова, бензойна кислоти. Хроматограми після хроматографування висушували і обробляли 0,1 % розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу у 95 % етанолі Р і нагрівали у сушильній шафі.

Для кількісного визначення суми вільних органічних кислот брали 25,0 г (точна наважка) подрібненої на порошок сировини поміщали у конічну колбу місткістю 250 мл, заливали 200 мл води Р і витримували на водяній бані протягом 2 год, потім охолоджували і кількісно переносили у мірну колбу місткістю 250 мл, доводили об'єм витяжки водою Р до позначки й перемішували. 10 мл витяжки відбирали у колбу місткістю 500 мл, додавали 200-300 мл води Р, 1 мл фенолфталеїну розчину Р1, 2 мл розчину 1 г/л метиленового синього Р і титрували 0,1 М розчином натрію гідроксиду до появи в піні світло-фіолетово-червоного забарвлення.

Вміст вільних ОК у перерахунку на лимонну кислоту в абсолютно сухій сировині обчислювали за формулою 2.6:

$$X=(V \times 0,0064 \times 250 \times 100 \times 100) / (m \times 10 \times (100 - W)), \quad (2.6)$$

де: V - об'єм розчину натрію гідроксиду, який пішов на титрування;

0,0064 – кількість кислоти лимонної, що відповідає 1 мл натрію гідроксиду;

m – маса сировини;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Визначення індивідуальних ОК проводили методом ГХ/МС.

До 50 мг висушеної рослинної сировини додають внутрішній стандарт (50 мкг тридекану в гексані) і доливають 1 мл метилюючого агента (14 % BCl_3 в метанолі, Supelco 3-3033). Суміш витримують у закритій герметичній ємкості 8 год за температури 65 °С. За цей час з сировини повністю вилучається жирні олії, відбувається їх гідроліз на жирні кислоти та їх метилювання. Реакційну суміш зливають з осаду рослинного матеріалу та розбавляють в 1 мл води очищеної. Для отримання метилових естерів жирних кислот доливають 0,2 мл хлористого метилену, акуратно струшують кілька разів протягом 1 год, а потім хроматографують отриманий екстракт метилових естерів.

Хроматографування.

Ввід проби (2 мкл) у хроматографічну колонку проводять у режимі splitless, тобто без поділу потоку, що дозволяє ввести пробу без втрати на поділ і значно (в 10-20 разів) збільшити чутливість методу хроматографування. Швидкість вводу проби 1,2 мл/хв протягом 0,2 хв. Хроматограф Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором 5973. Хроматографічна колонка – капілярна INNOWAX внутрішній діаметр 0,25 мм і довжиною 30 м. Швидкість газу-носія (гелій) 1,2 мл/хв. Температура нагрівача вводу проби – 250 °С. Температура термостата програмована від 50 °С до 250 °С зі швидкістю 4 °С в хв.

Для ідентифікації компонентів використовується бібліотека мас-спектрів NIST 05 і WILEY 2007 із загальним числом спектрів більше 470 000 в поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST.

Для кількісних розрахунків використовується метод внутрішнього стандарту. Розрахунок вмісту компонентів здійснюють за формулою 2.7:

$$C=K_1*K_2*1000, \quad (2.7)$$

де: $K_1=\Pi_1/\Pi_2$ (Π_1 – площа піку досліджуваної речовини, Π_2 – площа піку стандарту).

$K_2=50/M$ (50 – маса внутрішнього стандарту (мкг), введеного в зразок, M – наважка зразка (міліграм)).

2.3 Визначення летких сполук

Встановлення якісного складу та кількісного вмісту летких сполук проводили методом газової хроматографії на хроматографі Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором та капілярною колонкою HP-5ms (внутрішній діаметр – 0,25 мм, довжина – 30 м). Умови хроматографування: швидкість газу-носія (гелію) – 1,0 мл/хв; температура нагрівача введення проби – 250 °С; температура термостату програмувалася від 50 до 320 °С зі швидкістю 4 град/хв.

Для ідентифікації компонентів отримані спектри розглядали на основі загальних закономірностей фрагментації молекул органічних сполук під дією електронного удару, а також шляхом порівняння отриманих результатів з даними бібліотек мас-спектрів NIST02 із загальною кількістю спектрів більш 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS и NIST 02.

Кількісний вміст (X , мкг/г) визначали за методом внутрішніх стандартів за формулою 2.8:

$$X = \frac{\Pi_1 \times 20}{\Pi_2 \times m} \quad (2.8)$$

де P_1 – площа піка речовини, що вивчалася;

20 – маса внутрішнього стандарту, що вводився в зразок, мкг;

P_2 – площа піка стандарту;

m – наважка сировини, г [32].

РОЗДІЛ 3

ЯКІСНИЙ СКЛАД І КІЛЬКІСНИЙ ВМІСТ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У СИРОВИНІ ЧОРНОБРИВЦІВ ЗОЛОТИСТИХ (*TAGETES LUCIDA* CAV.)

3.1. Якісний аналіз біологічно активних речовин чорнобривців золотистих

Початковим етапом наших досліджень було проведення ідентифікації сполук фенольної природи за допомогою якісних реакцій та ТШХ і ПХ. Результати проведення якісних реакцій наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Ідентифікація сполук фенольної природи у сировині чорнобривців золотистих

БАР	Реакції ідентифікації	Аналітичний ефект
Гідроксикоричні кислоти	1% розчин ферум (III) хлориду	зелено-сіре забарвлення
Флавоноїди	ціанідинова проба	червоне забарвлення
	10 % р-н калію гідроксиду	жовте забарвлення
	10 % р-н ферум III хлориду	зелено-коричневе забарвлення
	10 % р-н плюмбум ацетату	жовтий осад

Методом ТШХ і ПХ, використовуючи як рухоми фазу н-бутанол-ацетатна кислота-вода очищена Р (4:1:2) і 15 % розчин ацетатної кислоти, встановлено якісний склад флавоноїдів у траві, стеблах, листках, квітках, коренях і насінні чорнобривців золотистих. Ідентифікували флавоноїди, порівнюючи одержані значення R_f із значеннями R_f стандартних фармакопейних зразків, та за забарвленням плям у денному та УФ-світлі до

і після обробки хроматограм парами аміаку. На хроматограмах спостерігали плями жовтого та жовто-коричневого кольору, інтенсивність яких посилювалася після їх обробки парами аміаку, що свідчила про наявність флавоноїдів.

У результаті ТШХ- і ПХ-аналізу у чорнобривців золотистих квітках виявлено рутин, ізокверцитрин, кверцетин, апігенін і кемпферол; у листках – рутин, ізокверцитрин, кверцетин і кемпферол; у коренях – рутин, кверцетин і кемпферол; у насінні – рутин, ізокверцитрин, кверцетин і кемпферол; у стеблах – ізокверцитрин, кверцетин і кемпферол.

У результаті ТШХ- і ПХ-аналізу у чорнобривців золотистих квітках і листках виявлено такі гідроксикоричні кислоти – хлорогенову, *p*-кумарову і хінну; у коренях – хлорогенову, *p*-кумарову, ферулову і хінну; у насінні – хлорогенову, ферулову, *p*-кумарову і сліди хінної; у стеблах – хлорогенову, кофейну, *p*-кумарову, ферулову і хінну.

Методом ТШХ з використанням рухомої фази – *n*-бутанол Р – ацетатна льодяна кислота Р – вода очищена Р (4:1:2) у чорнобривців золотистих траві, квітках і листках виявлено винну, лимонну, яблучну і бурштинову ОК, у насінні – лимонну, винну і бурштинову, у пагонах – лимонну і винну.

Результати досліджень показали наявність у досліджуваній сировині гідроксикоричних кислот і флавоноїдів з фенольних сполук та органічних кислот.

3.2 Визначення флавоноїдів

Флавоноїди є одними з найважливіших БАР фенольної природи, які мають широкий спектр фармакологічної активності, і проявляють антиоксидантну, спазмолітичну, діуретичну, протипухлинну, протизапальну, судинорозширювальну, гіпоглікемічну, жовчогінну, капіляррозміцнювальну дію [17, 33, 48, 71]. Низька токсичність та вибіркова фармакологічна дія на організм людини дозволяє все ширше використовувати їх при створенні нових лікарських засобів.

Результати визначення індивідуальних флавоноїдів у досліджуваній сировині чорнобривців золотистих методом ВЕРХ наведено на рисунках 3.1- 3.5 та у таблиці 3.2.

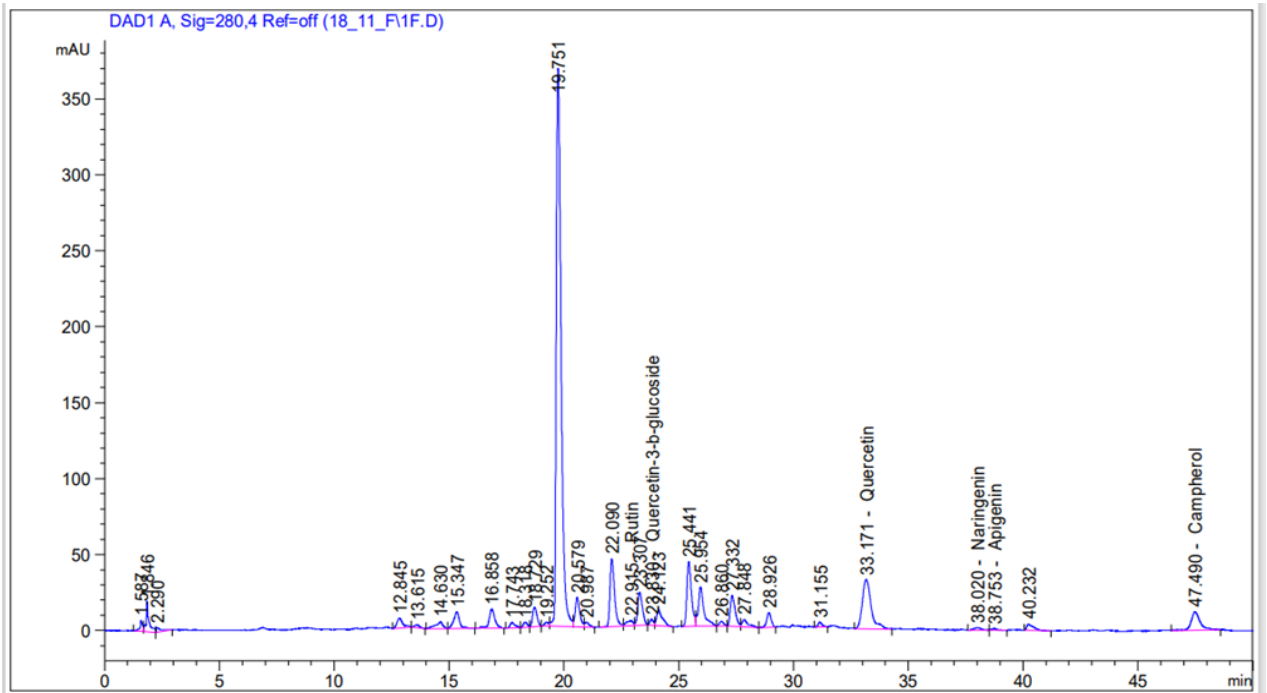


Рисунок 3.1 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів чорнобривців золотистих квіток

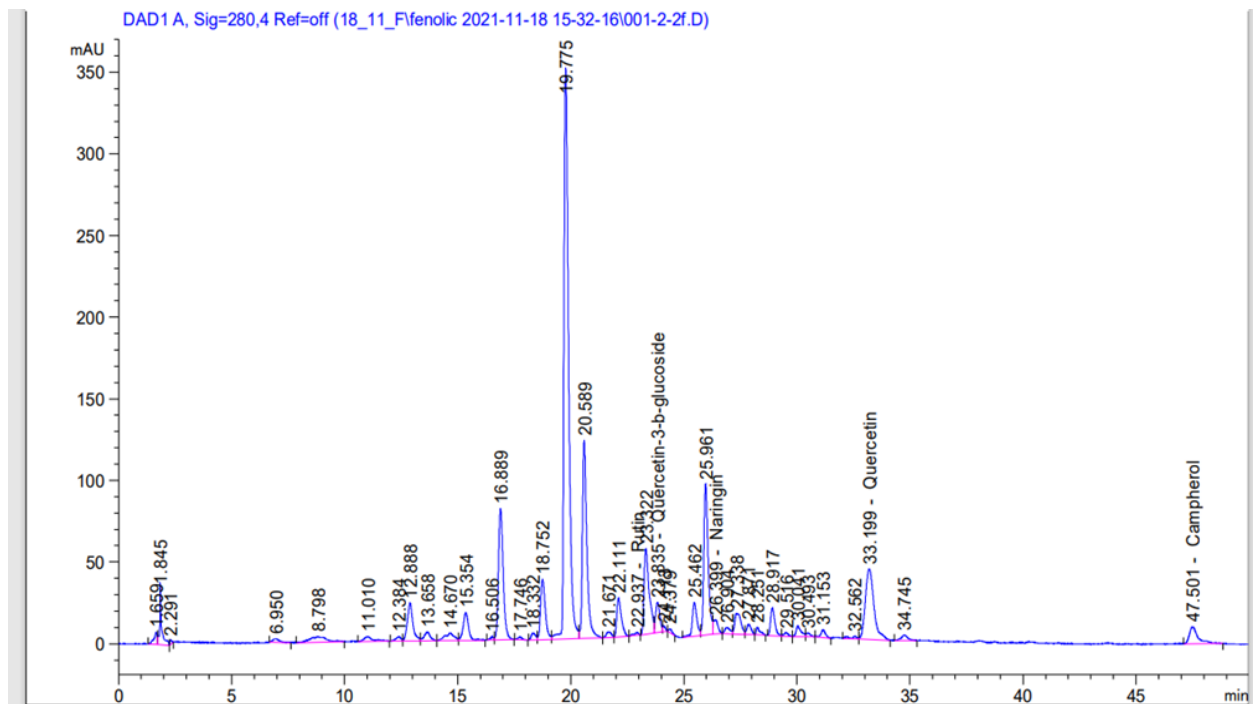


Рисунок 3.2 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів чорнобривців золотистих листків

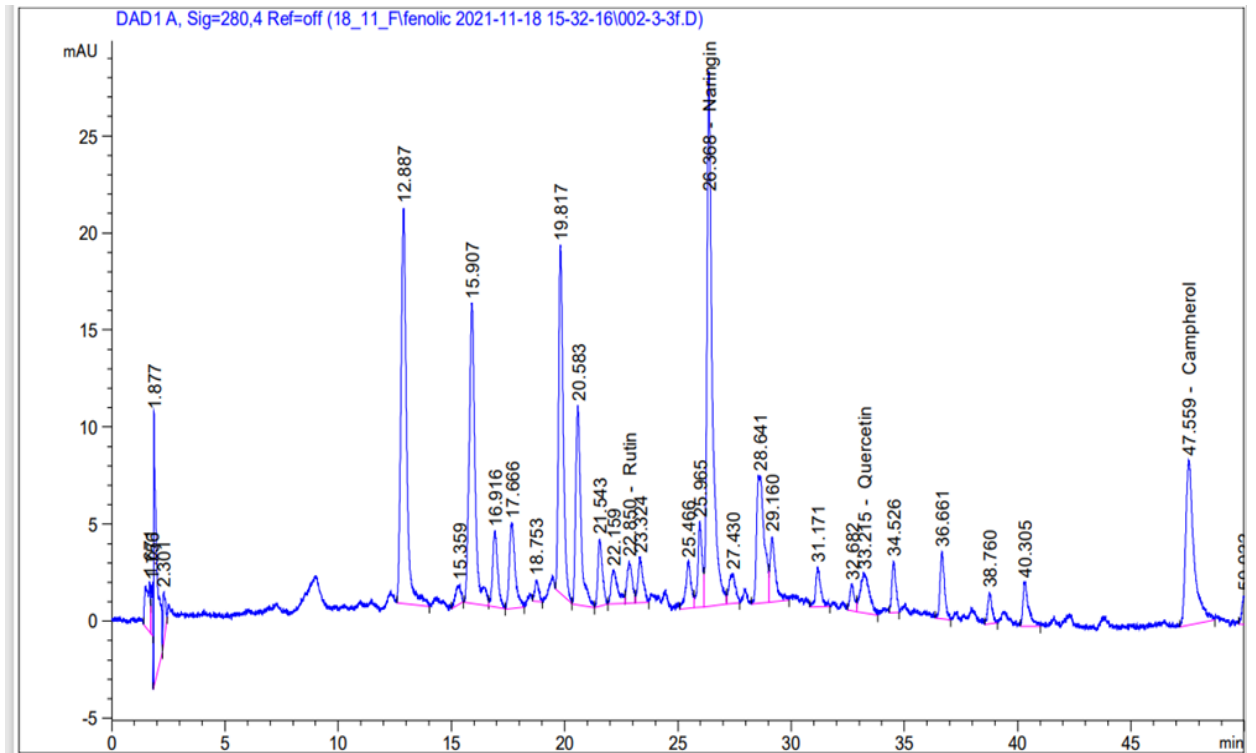


Рисунок 3.3 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів чорнобривців золотистих коренів

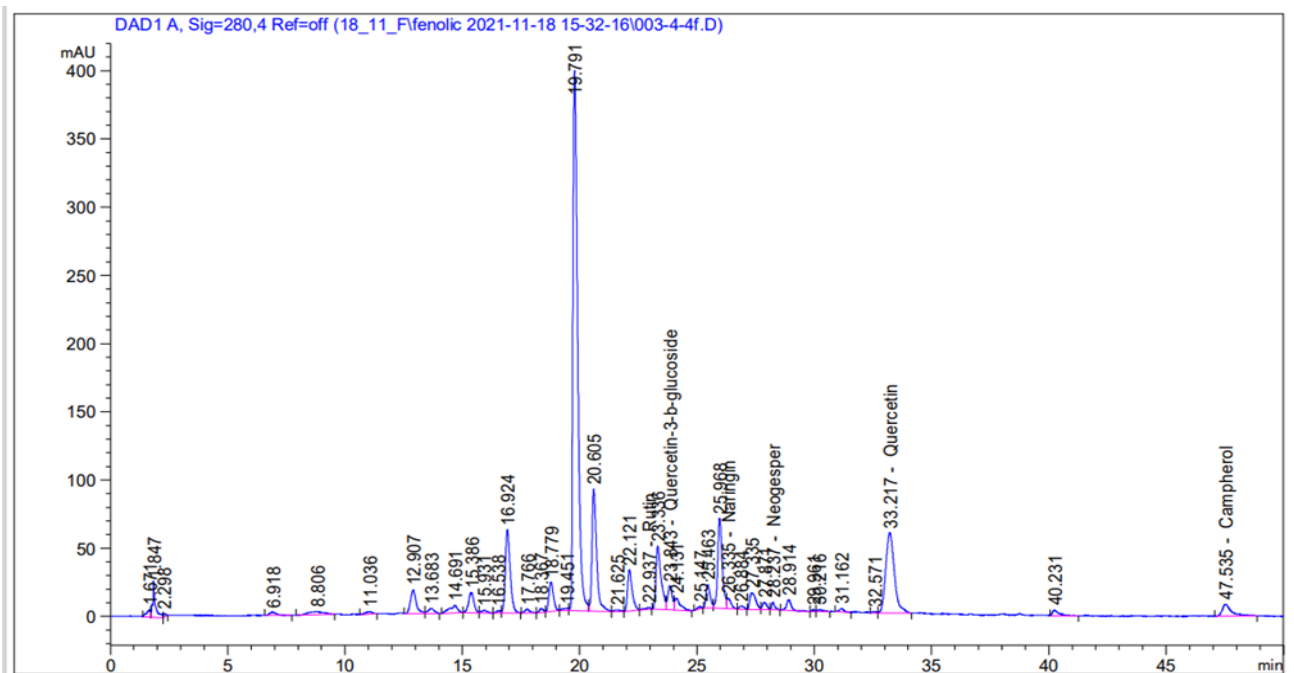


Рисунок 3.4 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів чорнобривців золотистих насіння

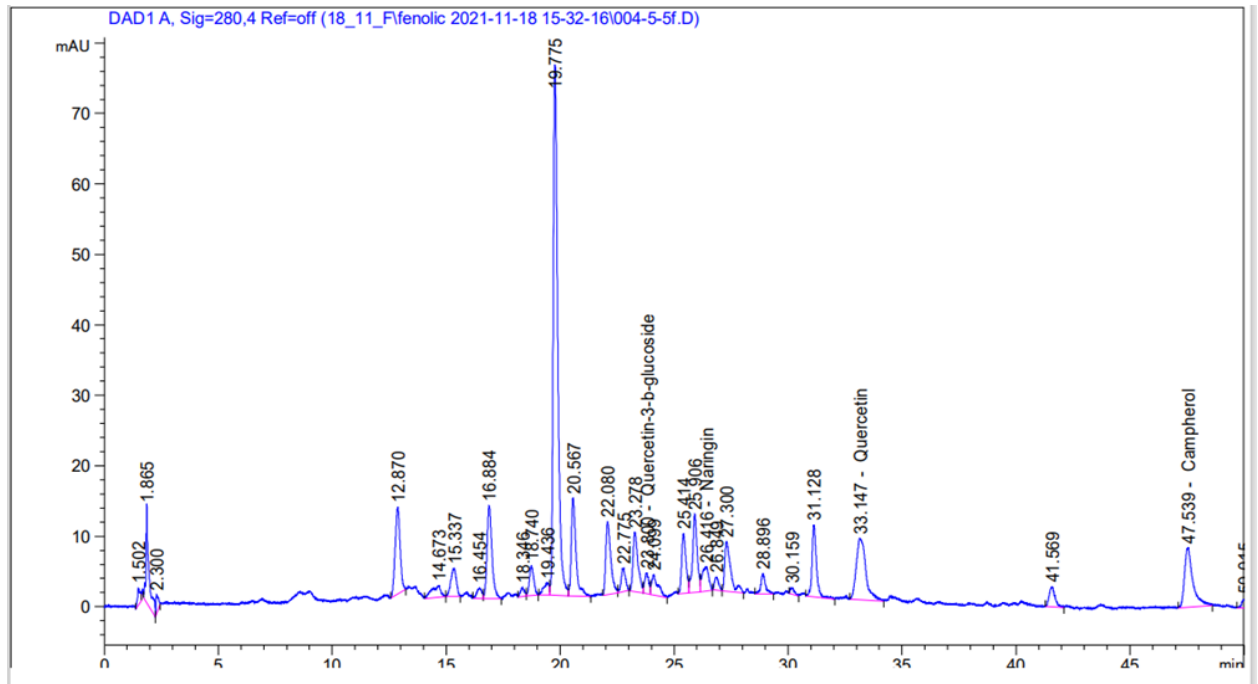


Рисунок 3.5 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів чорнобривців золотистих стебел

У чорнобривців золотистих квітках і насінні виявлено по 6 індивідуальних флавоноїдів, у листках – 5, у коренях і стеблах – по 4. Найбільше у досліджуваних об'єктах кверцетину. У насінні, листках і квітках його вміст був найбільший і становив 6322,13 мкг/г, 4006,79 мкг/г і 3734,08 мкг/г відповідно. Найменше кверцетину виявлено у коренях – 220,44 мкг/г. У коренях спостерігали найбільшу кількість нарінгіну (1773,97 мкг/г), який не виявлено у чорнобривців золотистих квітках (табл. 3.2).

Усі види сировини чорнобривців золотистих, окрім кверцетину, містили кемпферол, якого найбільше виявлено у квітках – 303,29 мкг/г, а найменше – у стеблах рослини (136,71 мкг/г). Апігенін і нарінгенін виявлено лише у чорнобривців квітках – 90,44 мкг/г і 192,78 мкг/г відповідно; неогесперидин – лише у насінні, його вміст становив 219,22 мкг/г. У стеблах не виявлено рутину, який наявний в усіх інших досліджуваних видах сировини.

Таблиця 3.2 – Якісний склад і кількісний вміст флавоноїдів у сировині чорнобривців золотистих (метод ВЕРХ)

БАР	Кількісний вміст, мкг/г				
	квітки	листки	корені	насіння	стебла
рутин	247,04	96,93	105,02	116,26	н/в
ізокверцитрин	99,77	137,05	н/в	160,60	68,32
нарінгін	н/в	505,80	1773,97	459,67	256,38
неогесперидин	н/в	н/в	н/в	219,22	н/в
кверцетин	3734,08	4006,79	220,44	6322,13	787,05
лютеолін	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в
нарінгенін	192,78	н/в	н/в	н/в	н/в
апигенін	90,44	н/в	н/в	н/в	н/в
кемпферол	303,29	206,95	147,14	207,34	136,71
Примітка. н/в – не виявлено.					

Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у сировині чорнобривців золотистих. Результати досліджень представлено у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3 – Кількісний вміст суми флавоноїдів у сировині чорнобривців золотистих (спектрофотометричний метод)

Назва сировини	Вміст суми флавоноїдів, %, n=5
Трава	4,18± 1,00
Квітки	4,15± 0,18
Листки	6,58 ± 0,12
Корені	3,54 ± 0,05
Насіння	7,89 ± 0,18
Стебла	1,86 ± 0,08

Дослідження показали, що найвищий вміст суми флавоноїдів міститься у чорнобривців золотистих насінні і складає $(7,89 \pm 0,18)$ %, найменше їх у стеблах рослини – $(1,86 \pm 0,08)$ %.

3.3 Визначення гідроксикоричних кислот

Гідроксикоричні кислоти є важливими БАР з антимікробною, імуностимувальною, гепатопротекторною, жовчогінною, сечогінною, протизапальною, антиоксидантною антирадикальною, противірусною, гіпоазотемічно, антибластомною, гіпоглікемічною та гіполіпедемічною дією [16].

Методом ВЕРХ дослідили компонентний склад і визначили кількісний вміст індивідуальних гідроксикоричних кислот сировини чорнобривців золотистих (рис. 3.6 і 3.10; табл. 3.4).

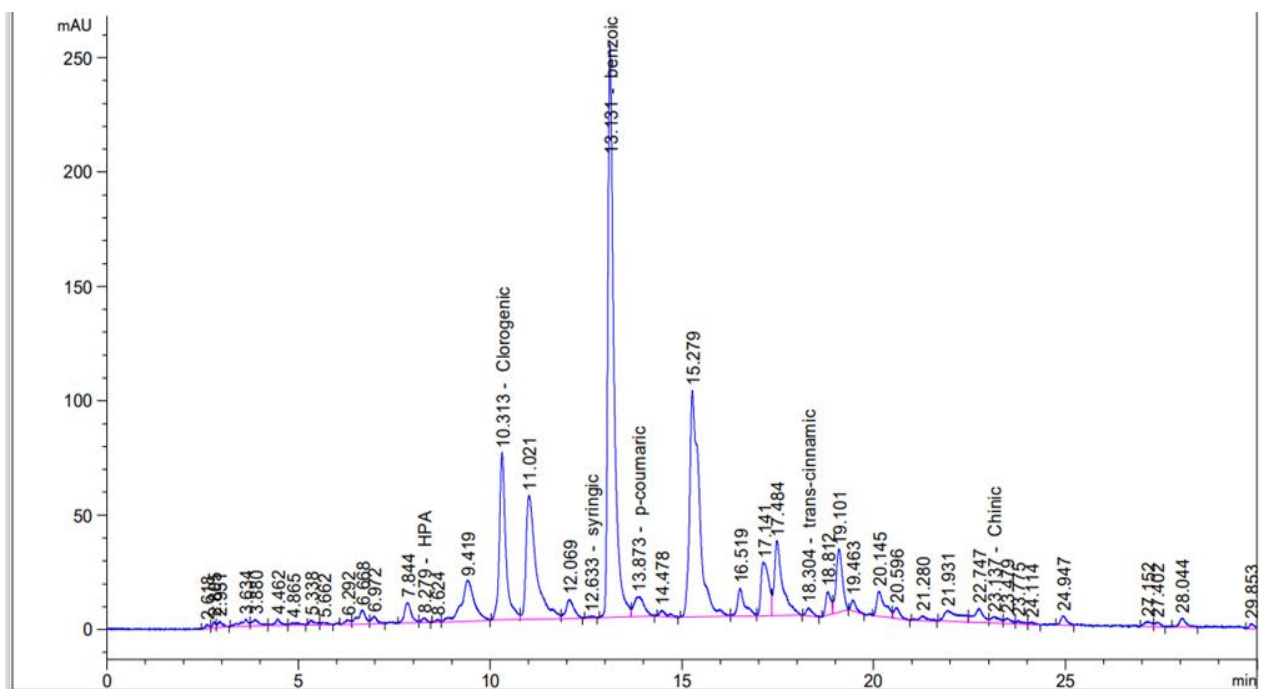


Рисунок 3.6 – ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних кислот чорнобривців золотистих квіток

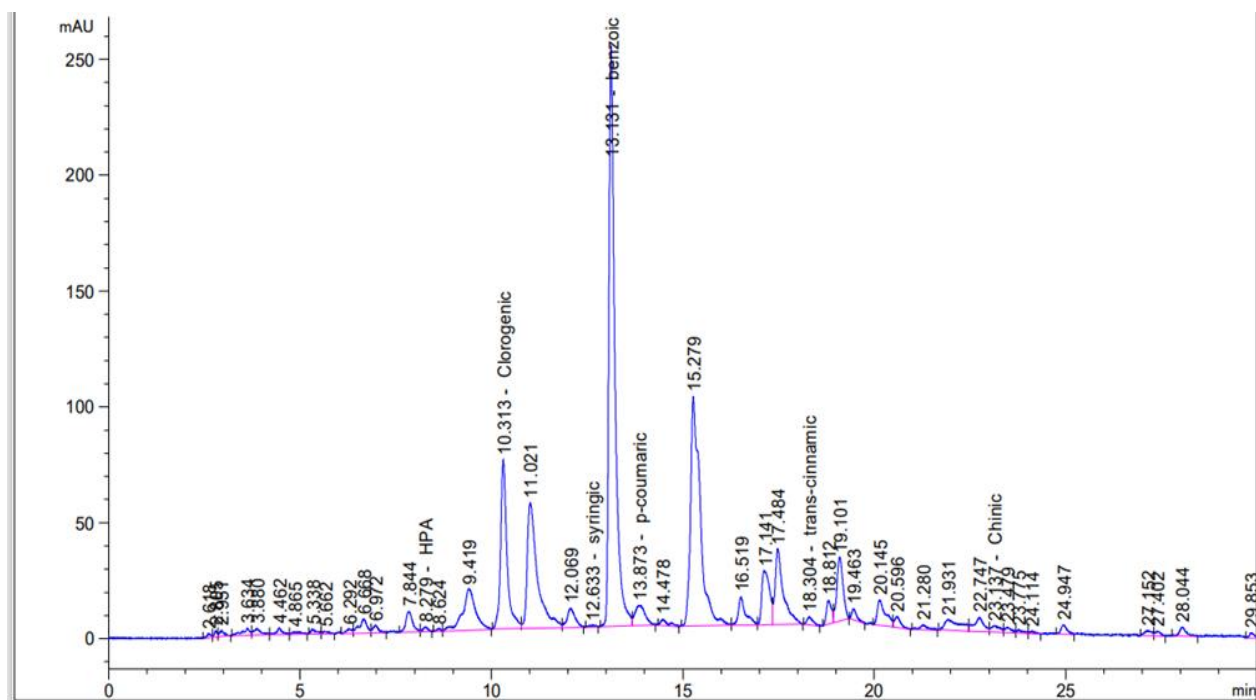


Рисунок 3.7 – ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних кислот чорнобривців золотистих листків

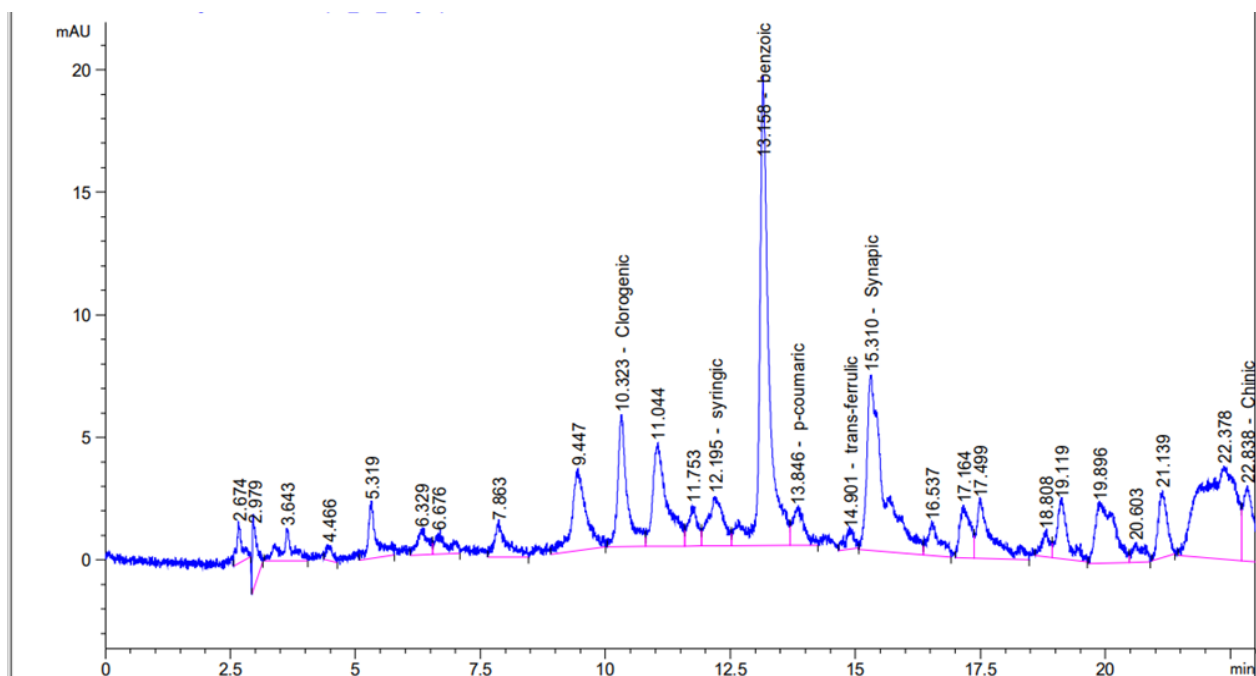


Рисунок 3.8 – ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних кислот чорнобривців золотистих коренів

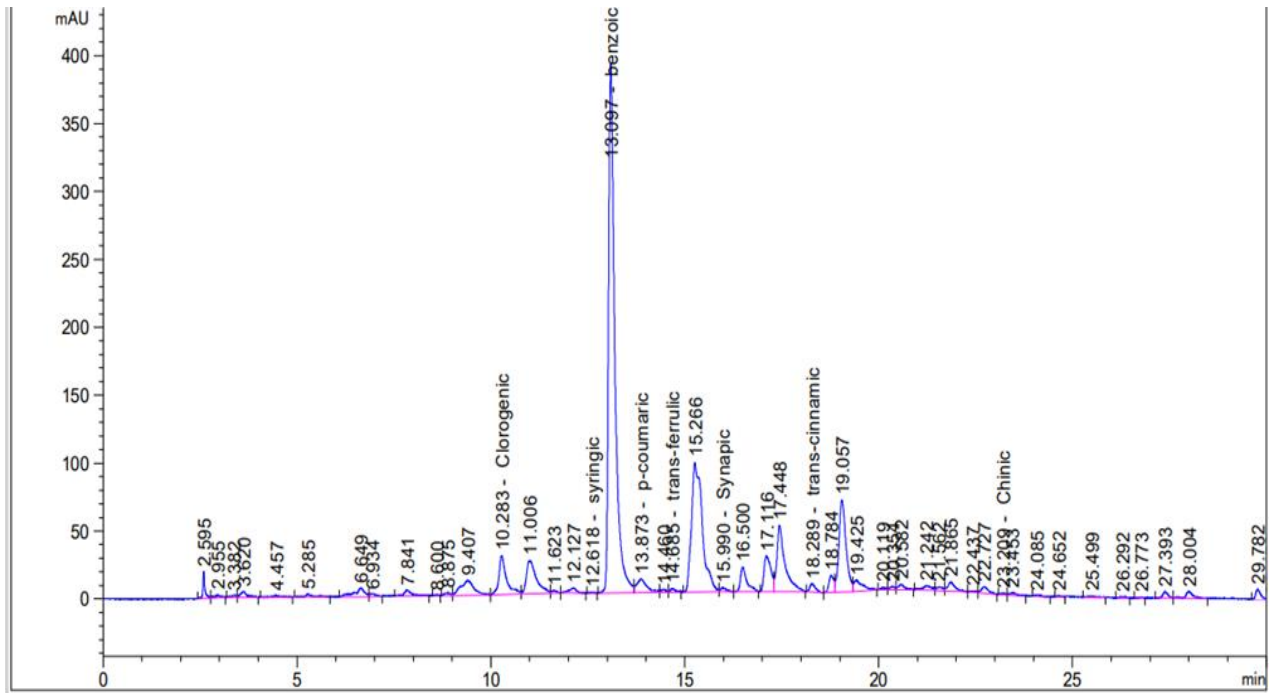


Рисунок 3.9 – ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних кислот чорнобривців золотистих насіння

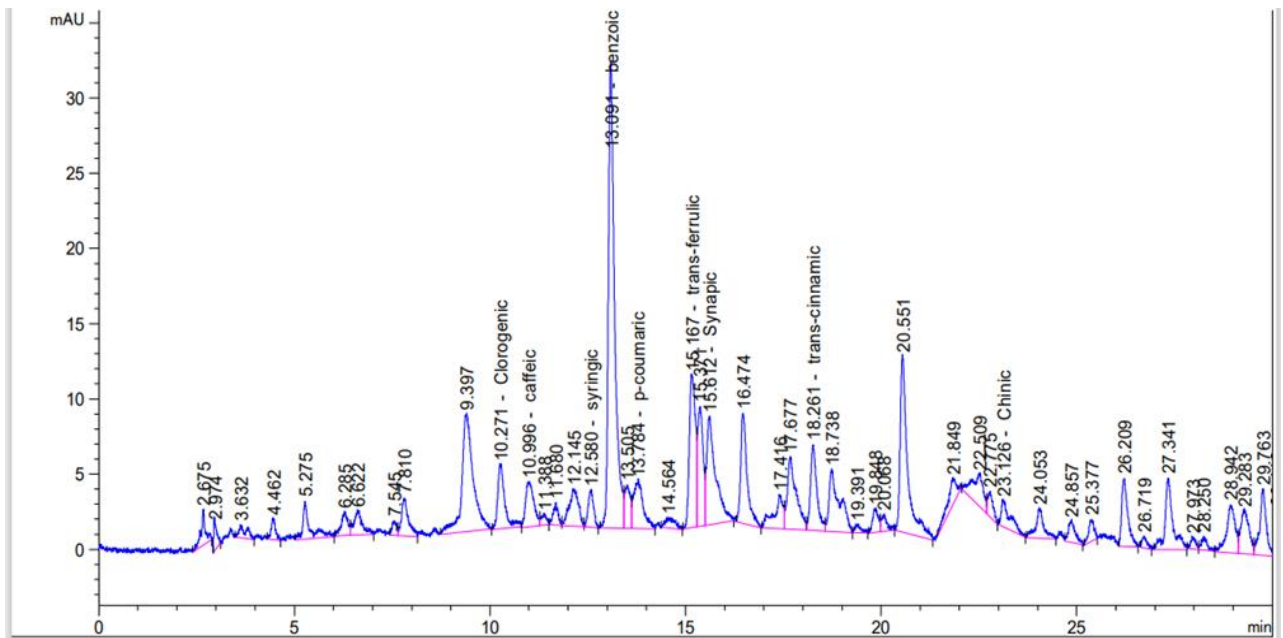


Рисунок 3.10 – ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних кислот чорнобривців золотистих стебел

Результати ВЕРХ-аналізу показали, що у сировині чорнобривців золотистих у найбільшій кількості виявлено хлорогенову кислоту, вміст якої домінував у листках, насінні і квітках, що становило 8840,24 мкг/г, 5598,12

мкг/г і 5221,56 мкг/г відповідно. У коренях і стеблах виявлено 958,20 мкг/г і 666,02 мкг/г хлорогеної кислоти. Значний вміст у стеблах виявлено хінної кислоти (2604,21 мкг/г), яку не виявлено у квітках і насінні. У коренях було 96,48 мкг/г хінної кислоти, у листках – у 2 рази менше. У досліджуваній сировині чорнобривців золотистих виявлено значну кількість *p*-кумарової кислоти – у квітках 427,70 мкг/г, у насінні – 480,19 мкг/г, у листках – 313,71 мкг/г; а також синапової кислоти, вміст якої у квітках становив 406,18 мкг/г, у коренях – 302,67 мкг/г (табл. 3.4).

Дослідження показали, що лише у листках наявна незначна кількість гідроксифенілацетатної кислоти (46,49 мкг/г), у стеблах – 159,50 мкг/г кофейної. У листках не виявлено ферулової і синапової кислот, у квітках і насінні – хінної, в коренях – цинамової кислоти (табл. 3.4).

Таблиця 3.4 – Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних гідроксикоричних кислот у сировині чорнобривців золотистих (метод ВЕРХ)

БАР	Кількісний вміст, мкг/г				
	квітки	листки	корені	насіння	стебла
Гідроксифенілацетат на кислота	н/в	46,49	н/в	н/в	н/в
хлорогенова кислота	5221,56	8840,25	958,20	5598,15	666,02
кофейна кислота	н/в	н/в	н/в	н/в	159,50
сирінгова кислота	37,42	18,42	87,08	21,09	45,23
<i>p</i> -кумарова кислота	427,70	313,71	51,90	480,19	103,49
ферулова кислота	115,71	н/в	28,20	67,64	217,89
синапова кислота	406,18	н/в	302,67	76,00	184,33
цинамова кислота	74,54	26,83	н/в	60,16	47,69
хінна кислота	н/в	48,01	96,48	н/в	2604,21
Примітка. н/в – не виявлено.					

Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту у сировині чорнобривців золотистих. Дослідження показали, що найвищий вміст суми гідроксикоричних кислот міститься у чорнобривців золотистих насінні і складає $(5,56 \pm 0,15) \%$, дещо менше – у квітках $(5,07 \pm 0,15) \%$, найменше їх у коренях рослини – $(2,44 \pm 0,10) \%$.

Результати досліджень представлено у таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 – Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у сировині чорнобривців золотистих (спектрофотометричний метод)

Назва сировини	Вміст суми гідроксикоричних кислот, %, n=5
Трава	$4,22 \pm 0,10$
Квітки	$5,07 \pm 0,15$
Листки	$4,95 \pm 0,12$
Корені	$2,44 \pm 0,10$
Насіння	$5,56 \pm 0,15$
Стебла	$3,98 \pm 0,05$

3.4 Вміст суми фенольних сполук у сировині чорнобривців золотистих

Спектофотометричним методом на спектрофотометрі UV-1800 Shimadzu (Japan) у перерахунку на галову кислоту визначали вміст суми фенольних сполук.

Результати досліджень представлено у таблиці 3.6.

Дослідження показали, що найвищий вміст суми фенольних сполук міститься у чорнобривців золотистих траві і складає $(7,88 \pm 0,15) \%$, дещо

менше – у листках і квітках ($7,48 \pm 0,12$) % і ($7,46 \pm 0,15$) % відповідно, найменше їх у коренях рослини – ($2,00 \pm 0,10$) %

Таблиця 3.6 – Кількісний вміст суми фенольних сполук у сировині чорнобривців золотистих (спектрофотометричний метод)

Назва сировини	Вміст суми фенольних сполук, %, n=5
Трава	$7,88 \pm 0,25$
Квітки	$7,46 \pm 0,15$
Листки	$7,48 \pm 0,12$
Корені	$2,00 \pm 0,10$
Насіння	$7,00 \pm 0,15$
Стебла	$2,29 \pm 0,05$

3.5 Вміст органічних кислот

Результати визначення кількісного вмісту суми ОК титриметричним методом показали, що найвищий вміст суми ОК міститься у чорнобривців золотистих траві і складає ($1,67 \pm 0,12$) %, дещо менший, що становить ($1,65 \pm 0,11$) %, – у квітках. Найменша кількість суми ОК спостерігається у пагонах і становить ($0,76 \pm 0,05$) % (табл. 3.7)

Таблиця 3.7 – Кількісний вміст суми органічних кислот у сировині чорнобривців золотистих (титриметричний метод)

Назва сировини	Вміст суми ОК, %, n=5
Трава	$1,67 \pm 0,12$
Квітки	$1,65 \pm 0,11$
Листки	$1,20 \pm 0,10$
Корені	$0,94 \pm 0,05$
Насіння	$1,36 \pm 0,05$
Стебла	$0,76 \pm 0,05$

Методом ГХ/МС у траві чорнобривців золотистих виявлено наявність і встановлено кількісний вміст індивідуальних ОК (рис. 3.11).

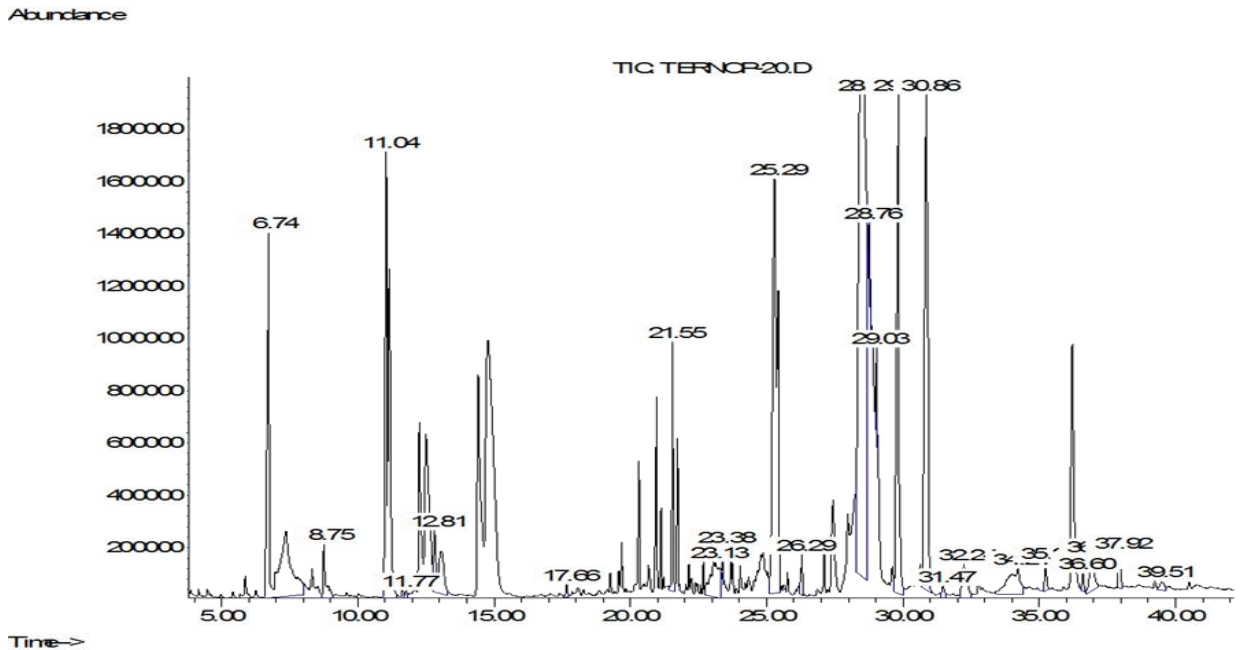


Рисунок 3.11 – ГХ/МС-хроматограма карбонових кислот чорнобривців золотистих трави

Встановлено, що чорнобривців золотистих трава містить щавлеву, малонову, фумарову, бурштинову, яблучну, лимонну, ванілінову, ізолимонну, сирінгову, ферулову кислоти. Спостерігали найбільший вміст лимонної (4315,5 мг/кг) та маленової (1367,2 мг/кг) органічних кислот. У незначних кількостях виявлено ванілінову і фумарову кислоти (табл. 3.8; рис. 3.12).

Таблиця 3.8 – Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних органічних кислот у траві чорнобривців золотистих (метод ГХ/МС)

№ з/п	Площа піку, mA*S	Кислоти	Вміст, мг/кг	Вміст, %
1	2	3	4	5
Карбонові кислоти				
1.	8,75	Щавлева	126,4	1,85
2.	11,04	Маленова	1367,2	20,0

Продовження таблиці 3.8				
1	2	3	4	5
3.	12,8	Бурштинова	314,9	4,60
4.	23,12	Яблучна	291,0	3,20
5.	28,51	Лимонна	4315,5	63,12
6.	34,21	Ізолимонна	270,0	3,95
Фенольні кислоти				
7.	11,77	Фумарова	15,4	0,22
8.	31,46	Ванілінова	34,1	0,50
9.	36,91	Сирінгова	138,2	2,02
10.	39,51	Ферулова	36,3	0,53

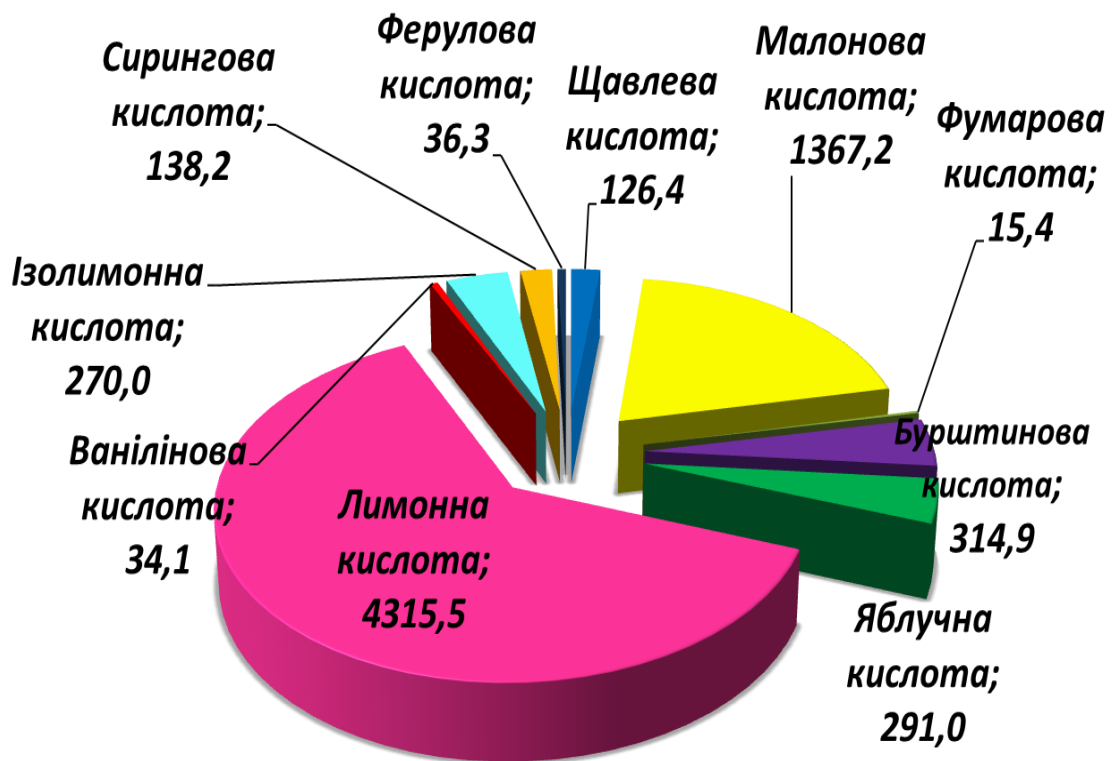


Рис. 3.12 Кількісний вміст індивідуальних карбонових кислот (мг/кг, метод ГХ/МС) у траві чорнобривців золотистих

3.6 Дослідження летких сполук

Значну роль серед летких виділень рослин відіграють ефірні олії. Ефірні олії – це ароматичні рідини, отримані з рослинної сировини, які захищають рослини від фітопатогенів або є принадою для запилювачів [64]. Сьогодні ефірні олії широко використовуються в медицині, косметології та харчовій промисловості. Вони проявляють бактеріостатичну, антисептичну, дезінфікуючу, противірусну, фунгістатичну, седативну, беззаспокійливу, анксиолітичну, антидепресивну відхаркувальну, сечогінну, протизапальну антиоксидантну активність [36, 37, 38, 47, 55].

У результаті проведених досліджень встановлено, що у коренях чорнобривців золотистих ідентифіковано 17 компонентів летких сполук, у листках – 18, у квітках – 41, у насінні – 35, у стеблах – 3 (рис. 3.13-3.17 і табл. 3.9).

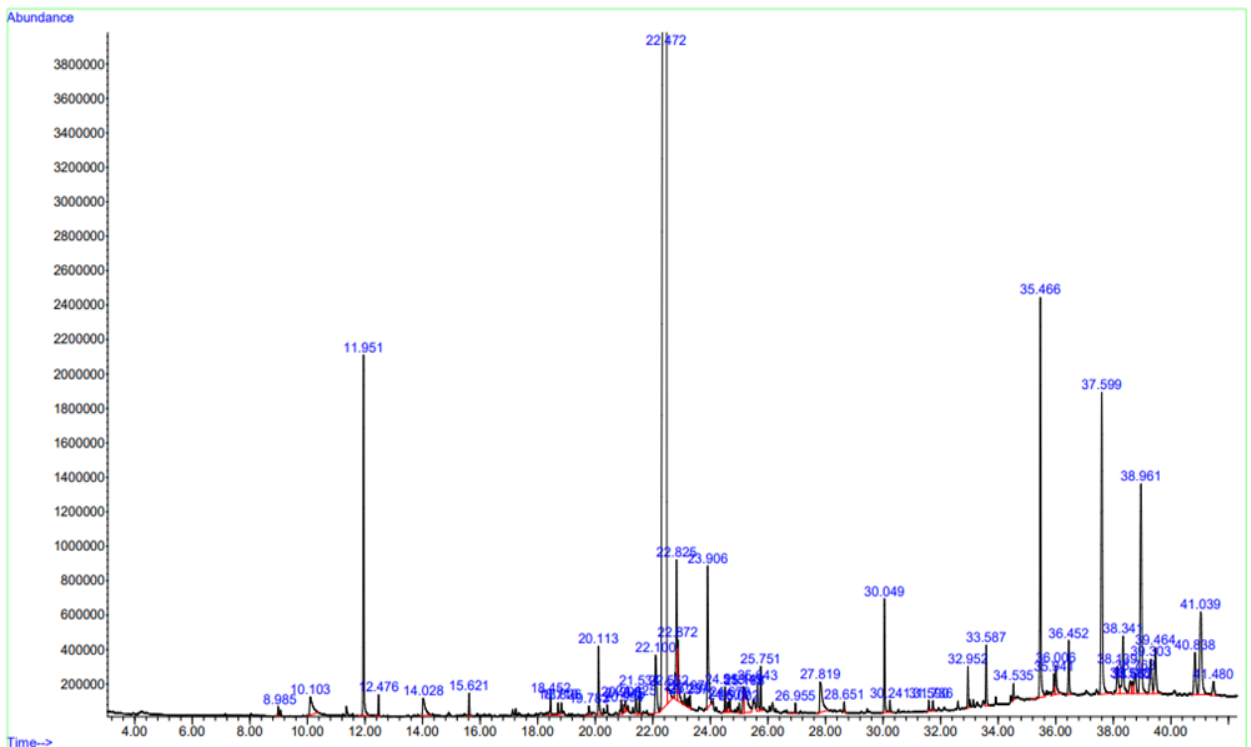


Рисунок 3.13 – ГХ/МС-хроматограма ефірної олії чорнобривців золотистих коренів

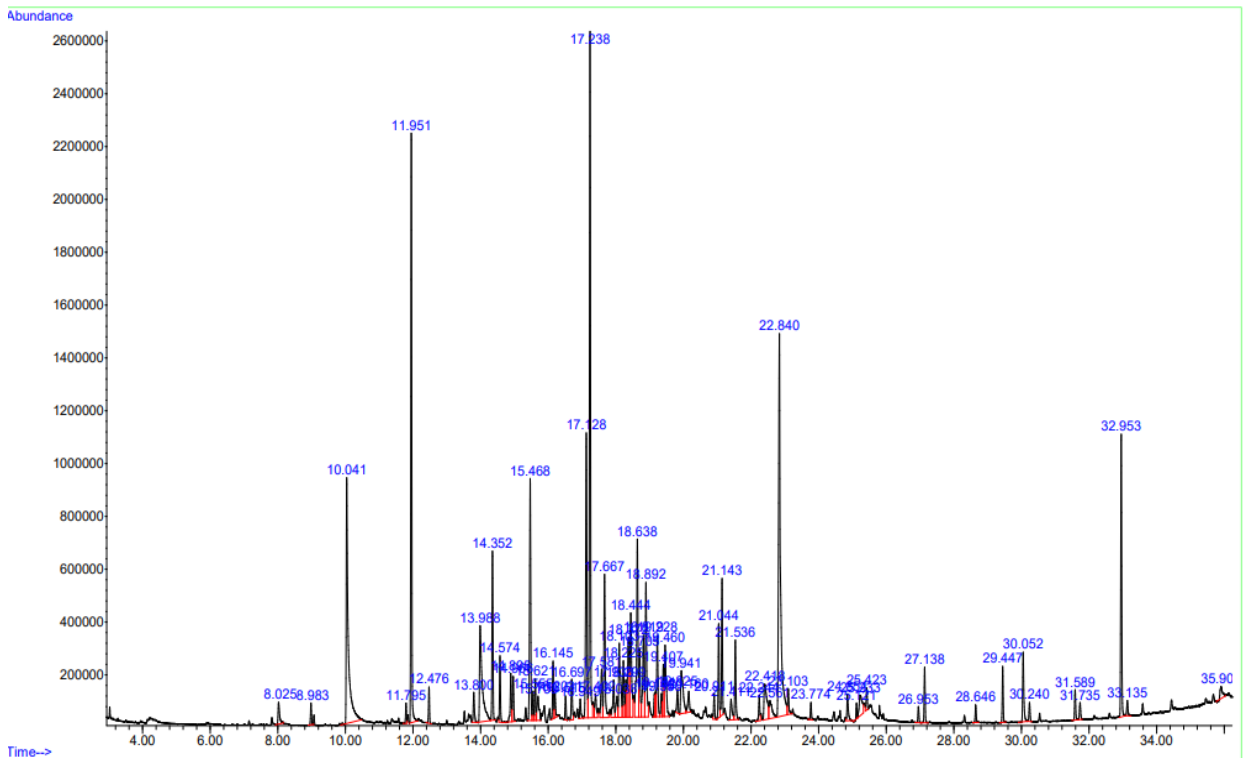


Рисунок 3.16 – ГХ/МС-хроматограма ефірної олії чорнобривців золотистих насіння

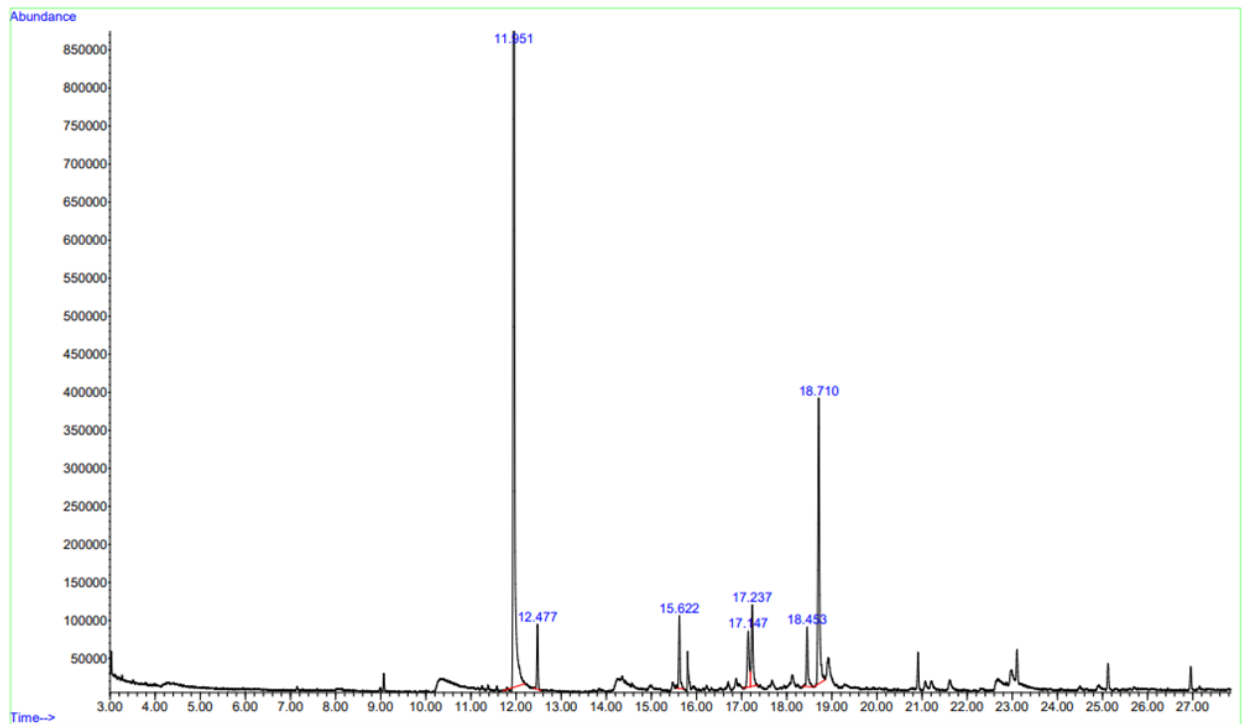


Рисунок 3.17 – ГХ/МС-хроматограма ефірної олії чорнобривців золотистих стебел

Спільними компонентами летких сполук досліджуваної сировини є: валеранон (крім квіток), каріофіленоксид (крім коренів), естрагол, метилізоевгенол і тіантрен (крім стебел), а також β -фарнезен, δ -кадинен, 3,4-диметил-3-циклогексен-1-карбоксальдегід (крім коренів і стебел), ейкозан, лінолева і пальмітинова кислоти (крім листків і стебел), сквален (крім насіння і стебел).

Таблиця 3.9 – Компонентний склад летких сполук у сировині чорнобривців золотистих

№ з/п	ЧУ, хв	Компоненти ефірної олії	Клас	Вміст, мкг/г				
				Корені	Листки	Квіти	Насіння	Стебла
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Монотерпеноїди								
1.	8,01	Ліналоол	Ациклічні монотерпеноїди	н/в	н/в	н/в	1,19	н/в
2.	17,4	транс-хризентемал	Моноциклічні монотерпеноїди	н/в	н/в	н/в	1,33	н/в
3.	8,98	Камфора	Біциклічні монотерпеноїди	0,47	н/в	н/в	0,73	н/в
4.	21,04	Пінан	Біциклічні монотерпеноїди	н/в	н/в	2,82	н/в	н/в
Сесквітерпеноїди та сесквітерпенові лактони								
5.	14,9	(E)- β- фарнезен	Ациклічні сесквітерпени	н/в	0,69	8,75	2,07	н/в
6.	15,47	(Z)- β- фарнезен	Ациклічні сесквітерпени	н/в	н/в	3,43	9,68	н/в
7.	15,88	(E,Z)- α-Фарнезен	Ациклічні сесквітерпени	н/в	1,14	н/в	н/в	н/в
8.	17,58	(Z,Z)- α-Фарнезен	Ациклічні сесквітерпени	н/в	н/в	14,30	н/в	н/в
9.	22,23	Фарнезин ацетон	Ациклічні сесквітерпени	н/в	н/в	0,83	0,99	н/в
10.	21,16	Гексагідрофарнезилацетон	Ациклічні сесквітерпени	н/в	2,51	н/в	н/в	н/в
11.	21,14	Фітон	Ациклічні сесквітерпени	н/в	н/в	5,66	4,80	н/в
12.	23,77	Неролідол	Ациклічні сесквітерпени	н/в	н/в	н/в	0,64	н/в
13.	19,68	Треметон	Ациклічні сесквітерпени	н/в	н/в	0,90	н/в	н/в
14.	16,04	Гермакрен Д	Моноциклічні сесквітерпени	н/в	н/в	0,53	2,51	н/в

Продовження табл. 3.9

1	2	3	4	5	6	7	8	9
15.	13,8	цис- β -Елемен	Моноциклічні сесквітерпени	н/в	н/в	0,60	1,28	н/в
16.	14,96	Гумулен	Моноциклічні сесквітерпени	н/в	0,74	н/в	1,91	н/в
17.	18,81	α – бісаболол	Моноциклічні сесквітерпени	н/в	н/в	н/в	4,29	н/в
18.	18,82	β -Бісаболол	Моноциклічні сесквітерпени	0,68	н/в	н/в	н/в	н/в
19.	18,71	Валеранон	Біциклічні сесквітерпени	0,68	4,10	н/в	2,99	5,72
20.	14,07	Каріофілен	Біциклічні сесквітерпени	н/в	2,24	н/в	5,90	н/в
21.	18,1	Каріофіладієнол	Біциклічні сесквітерпени	н/в	н/в	6,37	н/в	н/в
22.	16,14	δ -Кадинен	Біциклічні сесквітерпени	н/в	0,77	1,32	2,05	н/в
23.		α -калакорен	Біциклічні сесквітерпени	н/в	н/в	н/в	0,87	н/в
24.	14,57	α -бергамотен	Біциклічні сесквітерпени	н/в	н/в	2,47	2,26	н/в
25.	15,55	γ -селінен	Біциклічні сесквітерпени	н/в	н/в	н/в	1,07	н/в
26.	15,7	γ -маліен	Біциклічні сесквітерпени	н/в	н/в	н/в	1,72	н/в
27.	16,2	Транс- α -бергамотол	Біциклічні сесквітерпени	н/в	н/в	2,46	н/в	н/в
28.	16,51	α -калакорен	Біциклічні сесквітерпени	н/в	н/в	1,07	н/в	н/в
29.	15,45	β -кубебен	Трициклічні сексвітерпени	н/в	4,22	н/в	н/в	н/в
30.	17,12	(-)- спатуленол	Трициклічні сексвітерпени	н/в	4,12	н/в	12,19	н/в
31.	17,13	(+)- спатуленол	Трициклічні сексвітерпени	н/в	н/в	14,30	н/в	н/в
32.	17,58	(-)-Алоізолонгіфілен	Трициклічні сексвітерпени	н/в	0,67	н/в	2,37	н/в
33.	17,23	Каріофіленоксид	Сесквітерпенові лактони	н/в	11,94	3,24	1,68	1,74
34.	17,93	Аллоаромадендрен оксид	Сесквітерпенові лактони	н/в	н/в	2,00	4,27	н/в
35.	19,35	Ізоаромадендрен епоксид	Сесквітерпенові лактони	н/в	н/в	1,50	н/в	н/в
36.	19,82	Аристон епоксид	Сесквітерпенові лактони	н/в	н/в	н/в	1,01	н/в
Ароматичні сполуки								

Продовження табл. 3.9

1	2	3	4	5	6	7	8	9
37.	10,1	Естрагол	Ароматичні сполуки	3,27	4,46	33,21	18,14	н/в
38.	14,02	Метилізоєвгенол	Ароматичні сполуки	2,75	0,23	26,87	9,13	н/в
39.	8,01	Ліналіл антранілат	Ароматичні сполуки	н/в	н/в	2,75	н/в	н/в
Інші класи БАС								
40.	19,94	Міристинова кислота	Жирні кислоти	н/в	н/в	10,71	3,80	н/в
41.	16,82	Лауринова кислота	Жирні кислоти	н/в	н/в	1,84	н/в	н/в
42.	25,2	Олеїнова кислота	Жирні кислоти	н/в	н/в	18,64	2,17	н/в
43.	25,48	Стеаринова кислота	Жирні кислоти	н/в	н/в	3,80	н/в	н/в
44.	13,36	Капринова кислота	Жирні кислоти	н/в	н/в	1,87	н/в	н/в
45.	21,4	Пентадеканова кислота	Жирні кислоти	н/в	н/в	5,23	н/в	н/в
46.	25,42	(Z,Z)- Лінолева кислота	Жирні кислоти	4,62	н/в	7,56	0,84	н/в
47.	22,82	Пальмітинова кислота	Жирні кислоти	9,61	н/в	48,92	26,11	н/в
48.	22,55	Пальмітваценова кислота	Жирні кислоти	н/в	н/в	6,87	н/в	н/в
49.	23,23	(R,R,R)-Метил-2,4,6-триметилнаноат	Естер жирної кислоти	0,42	н/в	н/в	н/в	н/в
50.	24,6	(E,E)-Лінолелаїдової кислоти метиловий естер	Естер жирної кислоти	0,73	н/в	н/в	н/в	н/в
51.	25	Стеаринової кислоти метиловий естер	Естер жирної кислоти	0,52	н/в	н/в	н/в	н/в
52.	22,29	Пальмітинової кислоти метиловий естер	Естер жирної кислоти	н/в	н/в	0,54	н/в	н/в
53.	22,47	Тіантрен	Гетероциклічні сполуки	285,68	7,98	2,60	3,71	н/в
54.	22,92	3-(4,8,12-триметилтридецил) фуран	Гетероциклічні сполуки	н/в	0,71	н/в	н/в	н/в

Продовження табл. 3.9

1	2	3	4	5	6	7	8	9
55.	23,9	3-(2-метил-м-дітіан-2-іл)-циклогексен-1-ол	Гетероциклічні сполуки	10,74	н/в	н/в	н/в	н/в
56.	17,66	3,4-диметил-3-циклогексен-1-карбоксальдегід	Циклічні алкени	н/в	1,78	8,57	6,71	н/в
57.	17,14	4-(3-метил-2-бутил)-циклопентен-1,3-діон	Циклічні алкени	н/в	н/в	н/в	н/в	1,29
58.	14,96	Z,Z,Z- 1,5,9,9-тетраметил-1,4,7-циклоундекатрієн	Циклічні трієни	н/в	н/в	0,73	н/в	н/в
59.	19,4	6-ізопропіл-4,8а-диметил-1,2,3,5,6,7,8,8а-октагідронафтален-2-ол	Біциклічні сполуки	н/в	н/в	2,66	2,08	н/в
60.	14,35	2-метилен-4,8,8- три метил-4-вініл-біцикло[5.2.0]нонан	Біциклічні сполуки	н/в	н/в	1,50	н/в	н/в
61.	31,59	Ейкозан	Насичені вуглеводні	0,54	н/в	1,92	1,13	н/в
62.	33,58	Октадекан	Насичені вуглеводні	3,42	н/в	н/в	н/в	н/в
63.	28,31	Гептадекан	Насичені вуглеводні	н/в	н/в	0,83	н/в	н/в
64.	35,46	7-гексил докозан	Насичені вуглеводні	23,63	н/в	н/в	н/в	н/в
65.	37,59	Тетратріаконтан	Насичені вуглеводні	24,47	н/в	0,57	н/в	н/в
66.	16,7	3-метилен-1,6-гептадієн	Ненасичені вуглеводні	н/в	1,08	н/в	н/в	н/в
67.	11,79	1-тетрадекен	Ненасичені вуглеводні	н/в	н/в	0,59	0,65	н/в
68.	24,85	Фітол	Дитерпеноїд	н/в	н/в	0,66	1,26	н/в
69.	32,96	Сквален	Тритерпеноїд	2,05	1,49	38,62	н/в	н/в

Примітка. н/в - не виявлено.

ВИСНОВКИ

1. У сировині (траві, квітках, листках, стеблах, коренях, насінні) чорнобривців золотистих методами фітохімічного аналізу встановлено наявність речовин первинного синтезу – органічних кислот і вторинного синтезу – флавоноїдів, гідроксикоричних та ефірної олії, які забезпечують фармакологічну активність досліджуваної рослини.

2. Визначено у сировині чорнобривців золотистих кількісний вміст суми кислот гідроксикоричних, суми флавоноїдів і суми фенольних сполук, який становив у квітках $(4,15 \pm 0,18) \%$, $(5,07 \pm 0,15) \%$ і $(7,46 \pm 0,15) \%$, у листках – $(6,58 \pm 0,12) \%$, $(4,95 \pm 0,12) \%$ і $(7,48 \pm 0,12) \%$; у коренях – $(3,54 \pm 0,05) \%$, $(2,44 \pm 0,10) \%$ і $(2,00 \pm 0,10) \%$; у насінні – $(7,89 \pm 0,18) \%$, $(5,56 \pm 0,15) \%$ і $(7,00 \pm 0,15) \%$; у стеблах – $(1,86 \pm 0,08) \%$, $(3,98 \pm 0,05) \%$ і $(2,29 \pm 0,05) \%$; у траві – $(5,28 \pm 0,17) \%$, $(4,18 \pm 1,00) \%$ і $(7,88 \pm 0,25) \%$ відповідно та органічних кислот, який становив у квітках $(1,65 \pm 0,12) \%$, у листках – $(1,20 \pm 0,10) \%$, у коренях – $(0,94 \pm 0,05) \%$, у насінні – $(1,36 \pm 0,05) \%$, у стеблах – $(0,76 \pm 0,05) \%$, у траві – $(1,67 \pm 0,12) \%$.

3. Методом ВЕРХ у квітках, листках, стеблах, коренях і насінні чорнобривців золотистих виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст хлорогенової, кофейної, сирінгової, *p*-кумарової, ферулової, синапової, цинамової, хінної кислот. У квітках з флавоноїдів ідентифіковано рутин, ізокверцитрин, кверцетин, нарингенін, апігенін і кемпферол; у листках – рутин, ізокверцитрин, нарінгін, кверцетин і кемпферол; у коренях – рутин, нарінгін, кверцетин і кемпферол; у насінні – рутин, ізокверцитрин, нарінгін, неогесперидин, кверцетин і кемпферол; у стеблах – ізокверцитрин, нарінгін, кверцетин і кемпферол. З гідроксикоричних кислот виявлено у квітках хлорогенову, сирінгову, *p*-кумарову, ферулову, синапову, цинамову кислоти; у листках гідроксифенілацетатну, хлорогенову, сирінгову, цинамову і хінну; у коренях – хлорогенову, сирінгову, *p*-кумарову, ферулову, синапову і хінну

кислоти; у насінні – хлорогенову, *p*-кумарову, сирінгову, ферулову, синапову, цинамову кислоти; у стеблах – хлорогенову, кофеїну, *p*-кумарову, сирінгову, ферулову, синапову, цинамову і хінну кислоту.

4. Встановлено, що чорнобривців золотистих трава містить щавлеву, малонову, фумарову, бурштинову, яблучну, лимонну, ванілінову та ізолимонну, сирінгову, ферулову кислоти. Спостерігали найбільший вміст лимонної (63,12 %) та маленової (20,00 %) органічних кислот.

5. Методом ГХ/МС у сировині чорнобривців золотистих визначено якісний склад та кількісний вміст летких сполук, з яких ідентифіковано у коренях 17 компонентів, у листках – 18, у квітках – 41, у насінні – 35, у стеблах – 3.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аннотированный каталог видов и сортов эфиромасличных, пряно-ароматических, и пищевых растений коллекции Никитского ботанического сада / В. Д. Работягов, Л. А. Хлыпенко, Н. Н. Бакова, В. И. Машано. Ялта: Никитский ботанический сад, 2007. 48 с.
2. Бархатцы раскидистые // Лекарственные растения: самая полная энциклопедия / А. Ф. Лебеда, Н. И. Джуренко, А. П. Исайкина, В. Г. Собко. М., 2006. С. 89-90.
3. Бердей Т. Дослідження елементного складу трави рослин роду Чорнобривці. *XIV Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*, 13-15 квітня 2010 р.: матеріали конгресу. Тернопіль, 2010. С. 276.
4. Бердей Т. С. Фармакогностичне вивчення рослин роду чорнобривці з метою створення нових лікарських засобів: дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / НФаУ. Х., 2015. 24 с.
5. Бердей Т. С., Марчишин С. М. Вміст полісахаридів у траві рослин роду Чорнобривці. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матер. IV наук.-практ. конф. з міжнарод. участю, 29-30 вересня 2011 р., м. Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига, 2011. С. 29-30.
6. Бердей Т. С., Марчишин С. М. Дослідження ліпофільної фракції рослин роду Чорнобривці (*Tagetes L.*). *Фармацевтичний часопис*. 2011. № 1. (17) С. 10-14.
7. Бердей Т.С. Порівняльний аналіз ефірних олій трави рослин роду Чорнобривці. *Фармація України. Погляд у майбутнє* : матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 15-17 верес. 2010 р.). У 2 т. / М-во охорони здоров'я України, Нац. фармац. ун-т ; ред. кол. : В.П. Черних (голова) та ін. ; Н.А. Третьякова та ін. Х. : НфаУ, 2010. Т.1. С. 222.
8. Биологически активные вещества водно-этанольного экстракта сортообразца *Tagetes signata* Bartl. № 13152-8 'ветвистый' коллекции

Никитского ботанического сада / Г. В. Корнильев, А. Е. Палий, В. Д. Работягов, С. А. Феськов. Бюллетень ГНБС. 2016. Вып. 118. С. 44-50.

9. Василенко Ю.К. Гепатозащитные свойства препаратов из бархатцев распростертых / Ю. К. Василенко, А. Н. Богданов, Л. М. Фролов, А. В. Флоров. Хим.-фармац. журнал. 1990. № 1. С. 53-56.

10. Вивчення гострої токсичності ліпофільних екстрактів каротиноїдовмісних сортів роду чорнобривці (*Tagetes* L.) / О. О. Малюгіна, О. В. Мазулін, І. Ф. Беленічев, Г. П. Смойловська. *Фармацевтичний журнал*. 2016. № 1. С. 86-90.

11. Визначення вмісту каротиноїдів у суцвіттях чорнобривців розлогих / О. О. Малюгіна, О. В. Мазулін, Г. В. Мазулін, Г. П. Смойловська, П. А. Логвін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. № 3 (13). С. 89-91.

12. Визначення вмісту каротиноїдів у суцвіттях чорнобривців розлогих / О. О. Малюгіна, О. В. Мазулін, Г. В. Мазулін [та ін.]. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. № 3 (13). С. 89-90.

13. Гепатозащитное действие цветков бархатцев распростертых / Е. Г. Доркина, А. Ю. Терехов, Э. Т. Оганесян [и др.]. *Фармация*. 2004. С. 33-35.

14. Гепатозащитные свойства препаратов из бархатцев распростертых / Ю. К. Василенко, А. Н. Богданов, Л. М. Фролова, А. В. Фролов. *Химико-фармацевтический журнал*. 1990. Т. 24, №1. С. 53-56.

15. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., доп. 1. Х.: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.

16. Дослідження гідроксикоричних кислот підземних органів катрану серделистого та катрану коктебельського / О. Я. Скринчук, С. М. Марчишин,

Л. В. Слободянюк, М. М. Когут. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22. № 4. С. 91-95.

17. Іващенко І. В. Хроматографічний аналіз фенольних сполук *Tanacetum balsamita* L. (*Asteraceae*) за умов інтродукції в Житомирському Поліссі. *Физиология растений и генетика*. 2016. Т. 48, № 2. С. 178-183.

18. Касумов М. А. Некоторые биологические особенности бархатцев (*Tagetes* L.) и их народно-хозяйственное значение. Докл. АН Аз. ССР. 1982. Т. 38, № 4. С. 52-57.

19. Компонентний склад та протимікробна дія ефірної олії суцвіть чорнобривців прямостоячих (*Tagetes erecta* L.) / О. О. Малюгіна, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська [та ін.]. *Фармацевтичний журнал*. 2014. № 1. С. 86-92.

20. Мазулін О. В., Калошина Н. О. Вирощування лікарських рослин на присадибних ділянках. Х.: Прапор, 2001. С. 41-43.

21. Малюгіна О. О., Мазулін О. В., Мазулін Г. В. Визначення кількісного вмісту флавоноїдів у суцвіттях чорнобривців розлогих і прямостоячих. *Запорожский медицинский журнал*. 2013. № 6 (81). С. 88-91.

22. Марчишин С. М., Бердей Т. С., Демидяк О. Л. Макро- та мікроскопічні ознаки і хімічний склад трави рослин роду Чорнобривці. Методичні рекомендації. К., 2013. 32 с.

23. Марчишин С. М., Гусак Л. В., Бердей Т. С. Дослідження кислот гідроксикоричних трави чистецю Зібольда. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, № 3. С. 13-16.

24. Марчишин С. М., Сіра Л. М., Данилюк Б. Б. Морфолого-анатомічна будова трави чорнобривців золотистих (*Tagetes patula* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 1. С. 40-46.

25. Марчишин С. М., Стойко Л. І., Мосула Л. М. Визначення флавоноїдів тирличу хрещатого трави (*Gentiana cruciata* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 2. С. 58-61.

26. Машковська С. П. Алелопатичні та біохімічні особливості видів роду Чорнобривці (*Tagetes* L.): дис. ... канд. біол. наук: 03.00.12 / НАН України; Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка. К., 2002. 22 с.

27. Машковська С. П. Флавоноїди інтродукованих видів *Tagetes* L. *Актуальні проблеми ботаніки та екології* : матер. конф. молодих вчених-ботаніків України (20-23 серпня 2001 р., Зноб-Новгородське, Національний природний парк "Деснянсько-Старогутський). Ніжин: Вид-во ТОВ Наука-Сервіс. 2001. С. 93.

28. Машковська С. П., Григорюк І. П. Чорнобривці – джерело ефективних ліків. *Фітотерапія. Часопис*. 2003. № 4. С. 41-47.

29. Методика підготовки та проведення лабораторних занять з фармакогнозії: навч.-метод. посіб. : у 2 т. / В. С. Кисличенко, С. М. Марчишин, З. І. Омельченко та ін.; за ред. В. С. Кисличенко, С. В. Огарь. Тернопіль : ТДМУ, 2016. Т. 1. 395 с.

30. Определение флавоноидов и гидроксикоричных кислот в траве *Tagetes erecta* L., *Tagetes patula* L. и *Tagetes tenuifolia* Cav. методом ВЭЖХ / С. М. Марчишин, Т. С. Бердей, С. С. Козачок, О. Л. Демьдяк // Медицина и образование в Сибири. 2013. № 6. Режим доступа: http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1205.

31. Попова М. Е., Джуренко Н. І., Куришко Г. Г. Розробка лікарського засобу антиоксидантної дії у формі таблеток на основі порошку суцвіть чорнобривців. *Фізико-органічна хімія, фармакологія та фармацевтична технологія біологічно активних речовин* : збірник наукових праць / за заг. ред. А. Ф. Попова. Київ : КНУТД, 2019. Вип. 2, Т. 2. С. 54-61.

32. Скринчук О. Я., Марчишин С. М., Будняк Л. І. Порівняльний аналіз летких сполук катрану серцелистого і катрану коктебельського. *Медична та клінічна хімія*. 2019. Т. 21, № 2. С. 79-84.

33. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д. Дослідження фенольних сполук рижю посівного (*Camelina sativa* (L.) Crantz) та рижю дрібноплодоного (*Camelina microcarpa* Andr.). *Фармац. часопис*. 2020. № 4. С. 18–24.

34. Щавель І. Цілющі рослини України. Львів: БАК. 2012. С. 378.
35. Antidepressant-Like Effect of *Tagetes lucida* Cav. Extract in Rats: Involvement of the Serotonergic System / G. Guadarrama-Cruz, F. J. Alarcón-Aguilar, E. Vega-Avila [et al.]. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2012. Vol. 40, № 4. P. 753-768.
36. Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: a systematic review / M. Valdivieso-Ugarte, C. Gomez-Lorente, J. Plaza-Díaz, A. Gil Á. *Nutrients*. 2019. № 11(11). pii E2786.
37. Bagci E., Aydin E., Mihasan M. Anxiolytic and antidepressant-like effects of *Ferulago angulata* essential oil in the scopolamine rat model of Alzheimer's disease. *Flavour And Fragrance Journal*. 2016. Vol. 31 (1). P. 70-80.
38. Benny, A., Thomas, J. Essential Oils as Treatment Strategy for Alzheimer's Disease: Current and Future Perspectives. *Planta Med*. 2019. № 85. P. 239-248.
39. Bunea A. Lutein Esters From *Tagetes erecta* L.: Isolation and Enzymatic Hydrolysis. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*. 2008. № 65 (1-2). P. 410-414.
40. Chemical Characterization of Cultivated *Tagetes minuta* L. by Use of Ultrasound-Assisted Head Space SPME and GC-MS / A. R. Ghiasvand, M. Nasser, S. Farsiraeh [et al.]. *Chromatographia*. 2011. № 73. P. 1031-1035.
41. Chemical constituents, antibacterial and antioxidant properties of the essential oil flower of *Tagetes minuta* grown in Cala community Eastern Cape, South Africa / A. Igwaran, B. C. Iweriebor, S. O. Okoh [et al.]. *BMC Complement. Altern. Med*. 2017. № 17. P. 351.
42. Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum* L.) / B. R. Sumere, M. C. de Souza, M. P. Dos Santos [et al.]. *Ultrasonics sonochemistry*. 2018. Vol. 48. P. 151-162.

43. Cytotoxic activity in *Tagetes lucida* Cav. / J. A. Mejia-Barajas, R. E. N. Del Rio, R. E. Martinez-Muñ [et al.]. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2012. № 24(2). P. 142-147.
44. Deliver D. J., Drarbers C.F., Laurier R.N. Synthesis of tagetenomes and their occurrence in oil of *Tagetes minuta*. *Phytochemistry*. 1991. Vol. 10, № 6. P. 1359-1361.
45. Determination of amino acids content of the *Tagetes lucida* Cav. by GC/MS / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, M. Ezhne. *Pharmacia*. 2021. № 68(4). P. 859-867.
46. Determination of phenolic compounds from *Stachys sieboldii* MIQ. herb and tubers / L. Husak, I. Dakhym, S. Marchyshyn [et al.] *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol. 6 (9). P. 450-453.
47. Essential oils as antimicrobial agents - myth or real alternative? / K. Wińska, W. Mączka, J. Łyczko [et al.]. *Molecules*. 2019. № 24(11). P. E2130.
48. Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: Relative significance in plants and humans / C. Brunetti, M. Di Ferdinando, A. Fini [et al.]. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013. Vol. 14. P. 3540-3555;
49. Hepatoprotective effects of *Tagetes lucida* root extract in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in Wistar albino rats through amelioration of oxidative stress / Samah Ali El-Newary, Rasha Fouad Ismail, Nermeen Mohammed Shaffie [et al.]. *Pharm Biol*. 2021. № 59(1). P. 986-997.
50. Insecticidal activity of an essential oil of *Tagetes patula* L. (*Asteraceae*) on common bed bug *Cimex lectularius* L. and molecular docking of major compounds at the catalytic site of clache1 / F. A. Politi, J. D. Nascimento, A. A. da Silva [et al.]. *Parasitol. Res*. 2017. Vol. 116. P. 415-424.
51. Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue. *Fitoterapia*. 2012. Vol. 83(3). P. 481-489.
52. Investigation of traditional medicinal floral knowledge of Sarban hills, Abbottabad, kp, Pakistan / F. Ijaz, Z. Iqbal, I. U. Rahman [et al.]. *J. Ethnopharmacol*. 2016. Vol. 179. P. 208-233.

53. Karyotype studies on *Tagetes erecta* L. and *Tagetes patula* L. / P. Zhang, L. Zeng, Y. X. Su [et al.]. *African Journal of Biotechnology*. 2011. № 10 (72). P. 16138-16144.
54. Lutein content in marigold flower (*Tagetes erecta* L.) concentrates used for production of food supplements / M. Sivel, S. Kracmar, M. Fisera [et al.]. *Czech J. Food Sci.* 2014. № 32. P. 521-525.
55. Microencapsulation of sweet orange essential oil (*Citrus aurantium* var. *dulcis*) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixtures: Preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities / J. S. F. de Araújo, E. L. de Souza, J. R. Oliveira [et al.]. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. Vol. 143. P. 991-999.
56. Parvaiz M. Ethnobotanical studies on plant resources of mangowal, district Gujrat, Punjab, Pakistan. *Avicenna J. Phytomed.* 2014. № 4. P. 364-370.
57. Phenolic compounds of *Tagetes lucida* Cav. with antibacterial effect due to membrane damage / P.Y. Villa-Silva, A. Iliná, J. A. Ascacio-Valdés [et al.]. *Boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas*. 2020. № 19 (6). P. 580-590.
58. Phytochemicals and Their Biological Activities of Plants in *Tagetes* L. / XU Li-wei, C. Juan, QI Huan-yang, SHI Yan-ping. *Chin. Herb. Med.* 2012. № 4 (2). P. 103-117.
59. Priyanka D., Shalini T., Kumar Navneet V. A brief study on marigold (*Tagetes* species): a review. *Inter. Res. J. Pharmacy*. 2013. № 4 (1). P. 43-48.
60. Pyrzynska K., Sentkowska A. Chromatographic Analysis of Polyphenols. Polyphenols in Plants. *Academic Press*. 2019. P. 353-364.
61. Rahman A. An ethnobotanical investigation on asteraceae family at Rajshahi, Bangladesh. *J. Bus. Admin. Manag. Sci. Res.* 2013. № 2 P. 133-141.
62. Rhama S., Madhavan S. Antibacterial Activity of the Flavonoid, patulitrin isolated from the flowers of *Tagetes erecta* L. *International Journal of PharmTech Research*. 2011. Vol. 3, № 3. P. 1407-1409.

63. Role of β -Caryophyllene in the Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of *Tagetes lucida* Cav. Essential Oil / A. Hernandez-Leon, M. E. González-Trujano, F. Narváez-González. *Molecules*. 2020. № 25. P. 675.
64. Sá R. C. S., Andrade L. N., Sousa D. P. A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes. *Molecules*. № 18(1). P. 1227-1254.
65. Salvaña F. R. Morphological and histochemical characterization of callus from leaf explant of *Tagetes lucida* Cav. (*Asteraceae*). *Journal on New Biological Reports*. 2019. № 8(3) P. 172-178.
66. Samoisy A. K., Mahomoodally F. Ethnopharmacological appraisal of culturally important medicinal plants and polyherbal formulas used against communicable diseases in Rodrigues Island. *J. Ethnopharmacol.* 2016. № 194 P. 803-818.
67. Some biological activities of *Tagetes lucida* plant cultivated in Egypt / E. Omer, S. F. Hendawy, A. M. N. El-Deen [et al.]. *Adv. Environ. Biol.* 2015. № 9. P. 82-88.
68. Systematic review and technological overview of the antimicrobial activity of *Tagetes minuta* and future perspectives / D. C. D. Santos, L. R. Schneider, A. da Silva [et al.]. *J. Ethnopharmacol.* 2017, 208, 8-15.
69. *Tagetes lucida* Cav.: Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of its tranquilizing properties / G. Pérez-Ortega, M. E. González-Trujano, G. E. Ángeles-López [et al.]. *J. Ethnopharmacol.* 2016. Vol. 181. P. 221-228.
70. *Tagetes* spp. Essential Oils and Other Extracts: Chemical Characterization and Biological Activity / B. Salehi, M. Valussi, M. F. Bezerra Morais-Braga [et al.]. *Molecules*. 2018. Vol. 1, № 23(11). P. 2847.
71. Total phenolic and total flavonoids content of aerial parts of *Artemisia abrotanum* Linn, and *A. pallens* Wall / J. Suresh, J. Fhuja, N. Paramakris Hnan, M. Sebastian. *Analyt. Chem. Lett.* 2012. Vol. 2, № 3. P. 186-191.
72. Verghese, J. Focus on xanthophylls from *Tagetes erecta* L. the giant natural complex-i. *Indian Spices*. 1998. № 33. P. 8-13.

ДОДАТКИ