



COMPARATIVE PHYTOCHEMICAL RESEARCH OF *GEUM URBANUM* L. AND *GEUM MONTANUM* L.

Cherpak Oksana, Cherpak Mikhaylo*

Danilo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

ПОРІВНЯЛЬНЕ ФІТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ *GEUM URBANUM* L. ТА *GEUM MONTANUM* L.

Черпак Оксана, Черпак Михайло

Received 22. 6. 2017

Revised 26. 6. 2017

Published 25. 11. 2017

Perspective to produce of phytopreparations are species of the genus *Geum* L., the family Rosaceae L.: *Geum urbanum* L., *Geum rivale* L., *Geum allepicum* Jacq. and also, a related species – *Geum montanum* L., which sprout in the western region of Ukraine. Phytochemical studies of water, alcohol and water extracts of acidified earth hydrochloric acid (leaves) and underground (rhizomes with roots) of *Geum urbanum* and *Geum montanum* for the presence of basic groups of biologically active substances have been found to contain a significant amount of tannins (hydrolyzed and condensed), insignificant The number of anthocyanins, flavonoids and coumarins in the studied vegetative organs. The phytochemical study of water extracts of the above ground and underground organs and ethanol extracts of underground bodies of *Geum urbanum* and *Geum montanum* has established the content of polyphenolic compounds: oxidized phenols and flavonoids. In extracts of the above ground organs of *Geum montanum* the rock content sum of oxidized phenols is 1.2 times higher than that of *Geum urbanum*. In extracts of underground organs of *Geum montanum* the content of sum of oxidized phenols is 1.3 times higher than that of *Geum urbanum*. In extracts of the above ground organs of *Geum montanum*, the mountain content of flavonoids is 1.2 times higher than that of *Geum urbanum*. Medicinal plant raw materials – above ground organs and underground organs *Geum urbanum* and *Geum montanum* are promising for further research of pharmacological activity and the creation on its basis of new medicinal herbal remedies. The obtained results by chromatography in a thin layer of sorbent indicate the presence of mountain flavonoids, in particular rutin and quercetin, in the above ground organs (sheet) of *Geum urbanum* and *Geum montanum*.

Keywords: *Geum urbanum* L.; *Geum montanum* L.; sum of oxidized phenols flavonoids

Вступ

Важливим завданням сучасної фітотерапії є пошук перспективних лікарських рослин з метою створення нових фітопрепаратів. Серед біологічно активних речовин, що містяться у рослинах і мають фармакологічну активність, важливе місце займають поліфенольні сполуки, зокрема, дубильні речовини (таніди), флавоноїди. Це обумовлено в значній мірі їх цінністю для медицини як джерел протизапальних, антибактеріальних, фунгіцидних, антиоксидантних засобів (Гродзінський, 1990; Hassing et al., 2001; Бубенчикова и Дроздова,

*Corresponding author: Mikhaylo Cherpak, Danilo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine, ✉ alexmcherpak@gmail.com

2004; Будников и Зиятдинова, 2005; Жукова и др., 2006). Рід гравілат включає в себе близько 40 видів дикорослих і культивованих багаторічних трав'янистих рослин, які поширені по всій земній кулі. У роді Гравілат, частіше один вид непомітно переходить у другий, завдяки наявності нових біоморфологічних властивостей і, як правило, підвищеної пластичності та гетерозису.

Рослини в багатьох випадках успішно інтродукують в нові райони (Henrickson, 2001; Radyukina et al., 2007). Рослини роду Гравілат (*Geum* L.) належать до родини Розові (Rosaceae Juss.) (Тахтаджян, 1987). Гравілати – багаторічні трав'янисті рослини з прямостоячим стеблом, залежно від виду висотою від 20 – 75 см, з потовщеним, циліндричним і численними шнуровидними коренями, які мають приємний аромат гвоздики (звідси назва «гвоздичний корінь»). Листки зелені, крупні, опушені, ліровидно-перисті зібрані в прикореневу розетку. Стеблові трійчатоопатеві або трійчаторозділені. Квітки правильні, двостатеві, п'ятипелюсткові, переважно жовті, рожеві, червоні, діаметром від 0,5 до 4 см, поодинокі або зібрані у суцвіття щиток або метелку. Рослини цвітуть у травні, липні, навіть у серпні. Можливе повторне цвітіння включно до жовтня. Плід збірний з горішковидних сім'янок з довгим на верхівці загнутим гачковидним носиком. З роду Гравілат в Україні та, зокрема, у її західному регіоні трапляються три види: гравілат міський, гравілат річковий, гравілат алепський (Никитин і Панкова, 1982; Доброчаева, 1999), а також споріднений вид – гравілат гірський (або сіверсія гірська). Перспективними для виробництва фітопрепаратів є види роду *Geum*: гравілат міський, гравілат річковий, гравілат алепський, а також споріднений вид – гравілат гірський (або сіверсія гірська), які зростають у західному регіоні України. За даними літератури серед рослин роду найбільш широко використовується в народній медицині гравілат міський. В той же час, гравілат гірський найменш вивчений вид. Враховуючи перспективність даного напрямку, актуальним є проведення порівняльних фітохімічних досліджень, зокрема, гравілату міського та гравілату гірського.

Метою роботи було порівняльне фітохімічне дослідження екстрактів лікарської рослинної сировини – надземних та підземних органів гравілату гірського та гравілату міського на вміст поліфенольних сполук – суми окиснюваних фенолів (кількісне визначення) та флавоноїдів (ідентифікація та кількісне визначення).

Матеріали та методи

Об'єктами вивчення стали – лікарська рослинна сировина – свіжі і висушені надземні (листя) та підземні (кореневища з коренями) органи гравілату міського, зібрані в серпні-вересні у Львівській області та гравілату гірського, зібрані в цей же період на висоті 1 900 м над рівнем моря на горі Піп Іван Чорногірський (Чорна Гора), що розташована на південно-східному кінці головного хребта масиву Чорногора, на межі Івано-Франківської та Закарпатської областей Українських Карпат, а також відвари (водні екстракти) та етанольні (70 %) екстракти підземних (кореневищ з коренями гравілату гірського та гравілату міського) та надземних органів (листя) гравілату міського та гравілату гірського. Виявлення основних груп біологічно активних речовин лікарської рослинної сировини за допомогою якісних реакцій проводять загальноприйнятими методами одержання водних, водно-спиртових та хлористоводневокислих екстрактів. Кількісне визначення поліфенольних сполук ЛРС включало: визначення вмісту суми окиснюваних фенолів – у водних екстрактах та визначення вмісту флавоноїдів – у етанольних екстрактах. Кількісне визначення вмісту суми окиснюваних фенолів у ЛРС – титриметричним методом (Государственная Фармакопея, 1990).

Вміст суми окиснюваних фенолів X , %, в перерахунку на абсолютно суху сировину розраховують за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot K \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25(100 - W)}$$

де: V – об'єм розчину калію перманганату (0,02 моль/л), використаного на титрування витягу, мл; V_1 – об'єм розчину калію перманганату (0,02 моль/л), використаного на титрування в контрольному досліді, мл; K – кількість суми органічних фенолів, що відповідають 1 мл розчину калію перманганату (0,02 моль/л) (в перерахунку на танін): $K = 0,00582$; m – маса сировини, г; W – втрата в масі при висушуванні сировини, %; 250 – загальний об'єм витягу, мл; 25 – об'єм витягу, взятого для титрування, мл

Кількісний вміст флавоноїдів здійснювали вимірюванням оптичної густини утвореного забарвленого комплексу з розчином алюмінію хлориду спектрофотометричним методом (Лобанова и др., 2004). Вміст суми флавоноїдів в перерахунку на кверцетин і абсолютно суху сировину в процентах (X) обчислюють за формулою:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{764,6 \cdot m \cdot 2(100 - W)}$$

де: D – оптична густина досліджуваного розчину; 764,6 – відносний показник поглинання комплексу кверцетину з алюмінію хлоридом при довжині хвилі 428 нм; m – маса сировини, г; W – втрата в масі при висушуванні сировини, %

Ідентифікацію флавоноїдів у лікарській рослинній сировині проводили хроматографією у тонкому шарі сорбенту (Беланова и др., 2011):

- ▶ хроматографування проводили на пластинках «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ»;
- ▶ аналізовані речовини наносили на пластинку у вигляді етанольних розчинів;
- ▶ у якості референтних взірців застосовували спиртові розчини рутину та кверцетину;
- ▶ нанесений об'єм проби становив: 20 мкл досліджуваних розчинів та по 10 мкл розчинів порівняння;
- ▶ рухому фазу готували шляхом змішування розчинників безпосередньо перед застосуванням. Хроматографічну камеру попередньо насичували парами системи розчинників протягом 30 хв. У якості рухомої фази застосовували систему розчинників етилацетат – оцтова кислота – вода (80:10:10); фронт рухомої фази: 10 см від лінії старту; висушування: в витяжній шафі при кімнатній температурі до видалення слідів розчинників; проявлення: після обробки 2 % спиртовим розчином алюмінію хлориду та подальшим її висушуванням, пластинку проглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 254 нм.

Результати та їх обговорення

Результати фітохімічного дослідження представлені в таблиці 1.

Проведеними фітохімічним дослідженням водних, водно-спиртових і водних екстрактах підкислених хлоридною кислотою, листя та кореневища з коренями гравілату міського та гравілату гірського на наявність основних груп біологічно активних речовин встановлено наявність дубильних речовин у всіх досліджуваних органах, антоціанів, флавоноїдів та кумаринів. Не виявлено алкалоїдів, антраценпохідних та серцевих глікозидів.

Результати визначення вмісту окиснюваних фенолів в перерахунку на абсолютно суху сировину в надземних і підземних органах гравілату міського та гравілату гірського наведено у таблиці 2, які свідчать про те, що їх вміст різний, як у надземних, так і у підземних органах і залежить від виду.

Таблиця 1 Результати загального фітохімічного аналізу надземних та підземних органів *Geum urbanum* L. та *Geum montanum* L.

Table 1 Results of general phytochemical analysis of the above-ground and underground organs *Geum urbanum* L. and *Geum montanum* L.

Досліджувані біологічно активні речовини	Лікарська рослинна сировина			
	<i>Geum urbanum</i>		<i>Geum montanum</i>	
	екстракт надземних органів	екстракт підземних органів	екстракт надземних органів	екстракт підземних органів
Алкалоїди	–	–	–	–
Антоціани	±	±	±	±
Дубильні речовини	+	+	+	+
Кумарини	±	±	±	±
Сапоніни	–	–	–	–
Серцеві глікозиди	–	–	–	–
Флавоноїди	+	±	+	±

(+) – реакція позитивна; (±) – реакція позитивна (речовини виявлені в незначних кількостях); (–) – реакція негативна (речовини не виявлені)

Таблиця 2 Кількісний вміст суми окиснюваних фенолів та флавоноїдів в надземних та підземних органах *Geum urbanum* L. та *Geum montanum* L.

Table 2 The quantitative content of sum of oxidized phenols and flavonoids in the above ground and underground organs of *Geum urbanum* L. and *Geum montanum* L.

Показник	<i>Geum urbanum</i>		<i>Geum montanum</i>	
	екстракт надземних органів	екстракт підземних органів	екстракт надземних органів	екстракт підземних органів
Кількісний вміст окиснюваних фенолів, %, ($\bar{x} \pm \Delta x$)	12,5 ± 0,3	24,8 ± 0,6	14,9 ± 0,3	31,6 ± 0,5
Флавоноїди, % ($\bar{x} \pm \Delta x$)	2,6 ± 0,2	–	3,1 ± 0,2	–

\bar{x} – середнє значення; Δx – абсолютна похибка середнього значення

Проведеним порівняльним фітохімічним дослідженням встановлено, що у екстракті надземних органів гравілату міського вміст окиснюваних фенолів становить 10,5 %, в той час, як їх вміст у екстракті гравілату гірського – 12,6 %, що у 1,2 рази більше. У екстракті підземних органів гравілату міського вміст окиснюваних фенолів становить 24,8 %, а їх вміст у екстракті гравілату гірського – 31,6 %, що майже у 1,3 більше. Дослідження кількісного вмісту флавоноїдів у етанольних екстрактах надземних органах ЛРС показали, що їх вміст у гравілаті міському становить 2,6 %, а у екстракті гравілату гірського – 3,1 %, що майже у 1,2 більше.

Хроматографією у тонкому шарі сорбенту встановлено, що у нижній частині хроматограми в УФ-світлі при довжині 254 нм досліджуваних зразків – спиртових розчинів надземних органів гравілату міського та гравілату гірського виявлена флуоресціююча зона жовтого кольору на рівні зони рутину – $R_f = 0,21 - 0,24$. У верхній частині хроматограми досліджуваних зразків – етанольних розчинів надземних органів гравілату міського та

гравілату гірського виявлена флуоресціююча зона жовто-зеленого кольору на рівні зони кверцетину – $R_f = 0,82 - 0,85$. Одержані дані методом хроматографії у тонкому шарі сорбенту вказують на наявність у надземній частині (листі) гравілату міського та гравілату гірського флавоноїдів, зокрема рутину та кверцетину.

Таким чином, найбільш цінною танідовмістною сировиною для заготівлі є кореневища з коренями обох видів гравілату.

Висновки

Фітохімічними дослідженнями водних, водно-спиртових і водних екстрактів підкислених хлоридною кислотою надземних (листя) та підземних (кореневища з коренями) органів гравілату міського та гравілату гірського на наявність основних груп біологічно активних речовин встановлено вміст значної кількості дубильних речовин (гідролізованих та конденсованих), незначної кількості антоціанів, флавоноїдів та кумаринів у досліджуваних вегетативних органах. Фітохімічним дослідженням водних екстрактів надземних та підземних органів та етанольних витягів підземних органів гравілату міського та гравілату гірського встановлено вміст поліфенольних сполук: кількісний вміст суми окиснюваних фенолів (танідів), ідентифікацію та кількісний вміст флавоноїдів. Максимальну кількість суми окиснюваних фенолів (танідів) виявлено в підземних органах як гравілату гірського, так і гравілату міського, відповідно, 31,6 і 24,8 %, менше – у надземній частині, відповідно, 14,9 та 12,5 %. У підземних і надземних органах гравілату гірського на 19 – 27 % більший вміст суми окиснюваних фенолів (танідів) по відношенню до гравілату міського, очевидно, пояснюється суворими умовами зростання гравілату гірського. Спектрофотометричним методом встановлено кількісний вміст флавоноїдів у надземній частині гравілату міського – 2,6 %, в той час як у гравілату гірського – 3,1 % флавоноїдів. Одержані результати ідентифікації методом хроматографії у тонкому шарі сорбенту вказують на наявність у надземних органах (листі) гравілату міського та гравілату гірського флавоноїдів, зокрема рутину та кверцетину. Лікарська рослинна сировина – надземні та підземні органи гравілату міського та гравілату гірського є перспективною для подальшого дослідження фармакологічної активності та створення на її основі нових лікарських фітозасобів.

Література

- Hassing, A., Liang, W., Schwabl, R., Stampfli, K. 2001. Flavonoids and tannins: Plant-based antioxidants with vitamin character. *Med. Hypothese*, vol. 52, no. 5, p. 479–481.
- Henrickson, J. 2001. Systematics and relationships of *Fallugia* (Rosaceae – Rosaceae). *Aliso*, vol. 20, no. 1, p. 1–15.
- Radyukina, N., Ivanov, Yu., Kartashov, A. 2007. Inducible and constitutive mechanisms of salt stress resistance in *Geum urbanum* L. *Russian Journal of Plant Physiology*, vol. 54, no. 5, p. 612–618.
- Беланова, Н., Карпов, С., Селеменев, С. 2011. Оптимизация разделения некоторых флавоноидов методом ТСХ. *Сорбционные и хроматографические процессы*, т. 11, вып. 6, с. 905–912.
- Бубенчикова, В., Дроздова, И. 2004. Изучение состава фенольных соединений донника лекарственного методом ВЭЖХ. *Хим. фарм. журн.*, т. 38, № 4, с. 24–25.
- Будников, Г., Зиятдинова, Г. 2005. Антиоксиданты как объекты биоаналитической химии. *Журнал аналитической химии*, т. 60, № 7, с. 678–691.
- Гродзінський, А. 1990. *Лікарські рослини: енциклопедичний довідник*. К.: Головна редакція української радянської енциклопедії ім. М.П. Бажана, 543 с.
- Государственная Фармакопея СССР/МОЗ СССР, XI издания. 1990. Москва: Медицина, вып. 2. 400 с.
- Доброчаева, Д., Котов, М., Прокудин Ю. 1999. *Определитель высших растений Украины*. [2-е изд-е стереот.], К.: Фитосоциоцентр, 548 с.

- Жукова, О., Абрамов, А., Даргаева, Т., Маркарян, А. 2006. Изучение фенольного состава подземных органов сабель-ника болотного. *Вестн. Московск. ун-та. Сер. 2. Химия*, 2006, т. 47, № 5, с. 342–345.
- Лобанова, А., Будаева, В., Сакович, Г. 2004. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья. *Химия растительного сырья*, №1, с. 47–52.
- Никитин, А., Панкова, И. 1982. *Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений*. Л.: Наука, 768 с.
- Тахтаджян, А. *Система магнолиофитов*. Л.: Наука, 1987, 439 с.