

## КОМПОНЕНТНИЙ СКЛАД ТА ПРОТИМІКРОБНА ДІЯ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ СУЦВІТЬ ЧОРНОБРИВЦІВ ПРЯМОСТОЯЧИХ (*TAGETES ERECTA* L.)

**Ключові слова:** чорнобривці прямостоячі, ефірна олія, газорідинна хроматографія

Рід *Tagetes* L. (чорнобривці) включає до 56 видів однорічних, іноді дворічних рослин та більш ніж 600 форм та сортів. Батьківщиною роду є Південна Америка [9].

*Tagetes erecta* L. (чорнобривці прямостоячі або африканські) вирощуються по всьому світу і відрізняються різноманіттям форм та сортів, багатим та тривалим цвітінням. Найвідомішими у культурі сортами чорнобривців є «*Hawaii*», «*Equinox*», «*Moonlight*», «*Zitronenprinz*» та ін.

Рослина має специфічний запах завдяки наявності ефіроолійних залоз на пелюстках квітки, листі та листочках обгортки [5, 6]. Суцвіття та трава чорнобривців прямостоячих містять ефірну олію, каротиноїди, флавоноїди, амінокислоти, гідроксикоричні кислоти та похідні тіфенів, їх використовують для одержання лікарських засобів гепатозахисної, протимікробної, протигрибової, протигельмінтної, антиоксидантної та адаптогенної дії, а також у харчовій промисловості, тваринництві та сільському господарстві [3, 4, 6, 8]. Традиційній медицині багатьох народів світу чорнобривці прямостоячі відомі як засіб для лікування коліки, інфекційних захворювань та пошкоджень шкіри, захворювань органів травлення, як сечогінний, жовчогінний, противиразковий засіб. Також їх використовують для лікування опіків та захворювань очей [4, 7].

У наш час використовують фітопрепарати з різних видів чорнобривців. Слід зазначити, що використання чорнобривців у медицині переважно обмежено засобами, що містять лютеїн та ефірну олію. 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 г, Catalent Pharma Solutions, Італія), Вітрум® Віжн (таблетки у оболонці, Unifarm Inc., США), комплекс для очей Лютеїн-Максимум (капсули 450 мг, YunaCo Company, Японія) та ін.

Нашу увагу привернула високоросла форма сорту Гаваї (*Tagetes erecta plena* L. var. «*Hawaii*»), яка, за попередніми дослідженнями, є перспективною для вирощування в умовах України та має високу продуктивність і значну сировинну базу, а також становить інтерес значним вмістом ефірної олії [8, 9]. З огляду на це, визначення кількісного вмісту та дослідження якісного складу ефірної олії чорнобривців прямостоячих має велике практичне і наукове значення.

**Метою** роботи є вивчення фізико-хімічних властивостей, якісного складу та кількісного вмісту біологічно активних сполук ефірної олії суцвіть *Tagetes erecta plena* L. varieties «*Hawaii*» (чорнобривців високорослих сорту Гаваї) та визначення її протимікробної активності.

## Матеріалита методидослідження

Об'єктами дослідження були суцвіття *Tagetes erecta plena* L. varieties «Hawaii», заготовлені у період цвітіння у липні 2012 р. в Запорізькій обл. Кількісний вміст ефірної олії встановлювали методом Клевенджера [9].

Для всебічної характеристики одержаних ефірних олій здійснювали визначення характерних фізико-хімічних показників: заломлення, густини, кислотного числа ( $I_A$ ), числа омилення ( $I_S$ ), ефірного числа ( $I_E$ ), гідроксильного числа ( $I_{OH}$ ) [1, 2].

Ідентифікацію та визначення кількісного вмісту компонентів виконували методом газорідинної хроматографії–мас-спектрометрії (ГРХ–МС) на хроматографі «Agilent Technology 6890 N» (США) з мас-спектрометричним детектором 5973N, адаптованим для роботи з капілярними колонками. Колонка кварцова, капілярна HP-5MS, 30 м завдовжки, з внутрішнім діаметром 0,25 мм. Температура від 50 °С до 220 °С, газ-носій – гелій. Температура детектора та випарювача – 250 °С. Детектор полум'яно-іонізаційний.

Для здійснення ГРХ–МС виконували попередню екстракцію ефірної олії. Наважку матеріалу (0,5 г) вміщували у віалі на 20 мл, додавали внутрішній стандарт (тридекан). Після цього у пробу додавали 10 мл води та відганяли ефірну олію проби за допомогою водяної пари упродовж 2 год з використанням зворотного холодильника з повітряним охолодженням. Змивали одержані сполуки додаванням 3 мл особливо чистого пентану у суху віалі на 10 мл. Змив концентрували до залишкового об'єму екстракту 10 мкл, який повністю відбирали хроматографічним шприцом та робили визначення. Компоненти ефірної олії ідентифікували за результатами порівняння мас-спектрів речовин, що були виділені у процесі хроматографування, з даними бібліотеки мас-спектрів NIST02.

Протимікробну активність досліджували на базі мікробіологічної лабораторії Запорізького обласного шкірно-венерологічного клінічного диспансеру. Роботи здійснювали відповідно до інструкції щодо санітарних норм і вимог при роботі з патогенними мікроорганізмами III–IV групи небезпеки.

У дослідях використовували клінічні та музейні штами бактерій, дріжджів, а також дерматофітних грибів *in vitro*. Бактеріостатичну активність ефірних олій визначали дифузією в живильний агар з паперових дисків  $d = 6 \pm 0,2$  мм, які були попередньо просочені досліджуваними речовинами. Для росту бактерій використовували спеціальні селективні середовища – середовище Бейлі або «шоколадний агар», для грибів застосовували густе середовище Сабуро з глюкозою.

Інкубування досліджуваних зразків з патогенними мікроорганізмами виконували у термостаті протягом 48 год за температури 36,7 °С для бактерій та  $28,0 \pm 1$  °С для грибів. Після цього визначали відповідні зони затримки росту. В окремих випадках створювали умови, які передбачали вміст 20% CO<sub>2</sub>.

## Результатидослідженнятаобговорення

Ефірна олія, одержана з суцвіть рослин – це рухома рідина яскраво-жовтого кольору, зі специфічним ароматним запахом та пекучим смаком. Вона легко розчинна у 96%-му етанолі, хлороформі, ацетоні, ефірі. Кількісний вміст ефірної олії у суцвіттях *Tagetes erecta plena* L. varieties «Hawaii» сягав  $0,50 \pm 0,04\%$ .

Показники кислотного, гідроксильного, ефірного числа та ефірного числа після омилення становили відповідно:  $0,56 \pm 0,04$ ,  $26,22 \pm 1,82$ ,  $28,05 \pm 1,94$  та  $92,58 \pm 8,26$ , що свідчить про помірну присутність у досліджуваній ефірній олії вільних і зв'язаних спиртів, кислот та складних ефірів. Це позитивно характеризує відносну стабільність

компонентів субстанції при її окисненні під час тривалого зберігання. Показник заломлення становив  $1,4915 \pm 0,0130$ , густина ефірної олії  $0,9140 \pm 0,0850$ .

Фізико-хімічні показники та кількісний вміст досліджуваної ефірної олії суцвіть *Tagetes erecta plena* L. var. «Hawaii» наведено в табл. 1.

Т а б л и ц я 1

**Кількісний вміст та фізико-хімічні показники ефірної олії суцвіть  
*Tagetes erecta plena* L. varieties «Hawaii» (n = 6)**

Показники якості ефірної олії	Значення показника ( $x \pm \Delta \bar{x}$ )
Кількісний вміст, %	0,50±0,04
Густина, ρ 20	0,9140±0,0850
Показник заломлення, n 20	1,4915±0,0130
Кислотне число	0,56±0,04
Гідроксильне число	26,22±1,82
Ефірне число	28,05±1,94
Ефірне число після омилення	92,58±8,26

У компонентному складі ефірної олії суцвіть *Tagetes erecta plena* L. var. «Hawaii», встановленому методом ГРХ–МС (рисунок), ідентифіковано до 18 сполук, 6 з яких – вперше (таб. 2).

Т а б л и ц я 2

**Кількісний вміст компонентів ефірної олії суцвіть  
*Tagetes erecta plena* L. varieties «Hawaii» (n = 6)**

Сполука	Час виходу, хв	Кількісний вміст в ефірних оліях, мг/кг
Ліналоол	10,46	44,90±0,05
1,8-Ментадієн	12,94	22,70±0,06
Пара-цимен-8-ол	13,44	154,20±0,45
Куміновий альдегід	14,50	13,90±0,04
Піперітон	15,47	211,10±0,61
Піперітенон	18,30	300,30±0,87
Евгенон	19,03	28,40±0,08
β-Каріофілен	20,49	20,60±0,06
Спатуленол	25,33	200,10±0,59
Гексагідрофарнезілацетат	30,43	14,60±0,04
Хенейкозан	33,76	19,30±0,05
Трікозан	36,01	60,50±0,17
Пентакозан	38,03	19,60±0,05
Гептакозан	38,57	52,90±0,15
Сквален	39,88	9,50±0,02
Нонакозан	41,05	81,10±0,22
Унтріаконтан	41,62	32,40±0,09
Тріаконтан	43,24	20,70±0,06

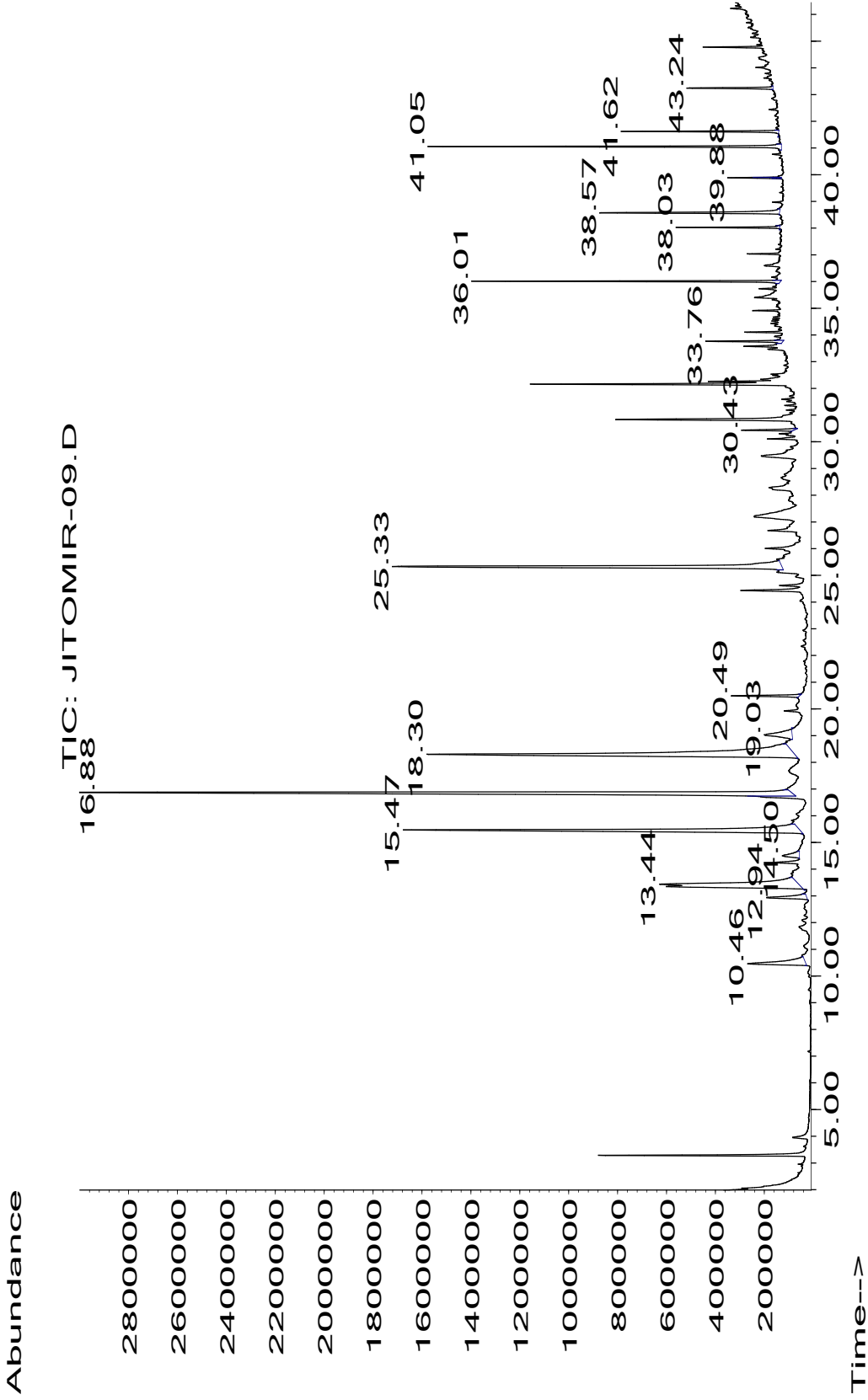


Рис. ГРХ-МС ефірної олії з суцвіть *Tagetes erecta plena* L. varieties «Hawaii»

Основними компонентами були: піперітенон ( $300,3 \pm 0,87$  мг/кг), піперітон ( $211,10 \pm 0,61$  мг/кг), спатуленол ( $200,10 \pm 0,59$  мг/кг), пара-цимен-8-ол ( $154,20 \pm 0,45$  мг/кг), нонакозан ( $81,10 \pm 0,22$  мг/кг), трікозан ( $60,50 \pm 0,17$  мг/кг), гептакозан ( $52,90 \pm 0,15$  мг/кг).

Сумарний вміст сполук потенційної протимікробної дії (спирти, альдегіди, кетони) становив 80,46%, біологічно активних сесквітерпенових лактонів, які мають протизапальну активність – 3,10%.

Показники протимікробної та протигрибової активності ефірної олії суцвіть *Tagetes erecta plena* L. varieties «Hawaii» вивчали на клінічних та музейних штаммах мікроорганізмів методом паперових дисків

Одержана ефірна олія має виражену бактеріостатичну дію на штами бактерій (таб. 3): *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), *Staphylococcus aureus* (клін.), *Staphylococcus saprophytus* (клін.), *Klebsiella pneumonia* (клін.). Зону затримки росту мікроорганізмів спостерігали в інтервалі  $13,0 \pm 0,5$  мм –  $17,0 \pm 1,5$  мм. Помірну бактеріостатичну активність було відмічено до *Proteus vulgaris* (клін.), *Escherichia coli* (клін.), *Neisseria gonorrhoea* (клін.), *Streptococcus agalactie* (клін.), для яких зони затримки росту мікроорганізмів знаходяться в інтервалі  $5,1 \pm 0,7$  мм –  $10,0 \pm 0,9$  мм.

Т а б л и ц я 3

**Показники протимікробної та протигрибової активності ефірної олії суцвіть *Tagetes erecta plena* L. varieties «Hawaii»**

Штами мікроорганізмів	Зона затримки росту, мм	
	досліджувана ефірна олія	контроль
Бактерії (стандарт каламутності 5 МО)		
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC-25923)	17,0±1,5	0
<i>Proteus vulgaris</i> (клін.)	10,0±0,9	0
<i>Escherichia coli</i> (клін.)	10,0±1,2	0
<i>Streptococcus agalactie</i> (клін.)	5,1±0,7	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (клін.)	15,0±1,0	0
<i>Staphylococcus saprophytus</i> (клін.)	13,0±0,5	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (клін.)	14,0±1,0	0
<i>Neisseria gonorrhoea</i> (клін.)	6,2±0,5	0
<i>Trichophyton rubrum</i> (клін.)	8,1±0,7	0
Гриби (стандарт каламутності 10 МО)		
<i>Candida albicans</i> (ATCC-885653)	15,0±0,6	0
<i>Candida utilis</i> (клін.)	9,2±0,8	0
<i>Rhodotorula rubra</i> (клін.)	4,0±0,4	0
<i>Aspergillus niger</i> (клін.),	3,5±0,3	0
<i>Aspergillus oryzae</i> (клін.)	7,1±0,6	0
<i>Microsporum canis</i> (клін.)	5,3±0,4	0
<i>Alternaria alternate</i> (клін.)	6,2±0,5	0

Виражену мікостатичну активність досліджувана ефірна олія виявляє відносно *Candida albicans* (ATCC-885653, клін.) (до  $15,0 \pm 0,6$  мм). Помірні зони затримки росту встановлено серед таких культур грибів: *Trichophyton rubrum* (клін.), *Aspergillus niger* (клін.), *Candida utilis* (клін.), *Rhodotorula rubra* (клін.), *Aspergillus oryzae* (клін.), *Alternaria alternata* (клін.) та *Microsporium canis* (клін.). Зону затримки росту цих грибів спостерігали в інтервалі  $3,5 \pm 0,3$  мм –  $9,2 \pm 1,0$  мм.

Бактеріостатичний ефект ефірної олії у разі використання методу колодязів виявляли незмінним упродовж 1 міс.

## В и с н о в к и

1. Досліджено фізико-хімічні показники, якісний та кількісний склад ефірної олії суцвіть *Tagetes erecta plena* L. varieties «Hawaii». Встановлено основних 18 компонентів ефірної олії, з яких 6 – вперше.

2. Кількісний вміст ефірної олії у суцвіттях чорнобривців пряmostоячих сорту Гаваї становив  $0,50 \pm 0,04\%$ .

3. Ефірна олія суцвіть *Tagetes erecta plena* L. varieties «Hawaii» виявляє виражену протимікробну та протигрибкову активність по відношенню до *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), *Staphylococcus aureus* (клін.), *Klebsiella pneumoniae* (клін.), *Staphylococcus saprophytus* (клін.), *Candida albicans* (ATCC-885653).

## Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Sefidkon F., Salehiar S., Mirzaei M. et al.* The essential oil of *Tagetes erecta* L. occurring in Iran // *Flavour and Fragrance J.* – 2004. – V. 19. – P. 579–581.

2. *Kiranmai M., Ibrahim M.* Antibacterial Potential of Different Extracts of *Tagetes erecta* Linn // *Inter. J. Pharmacy.* – 2012. – V. 2, N 1. – P. 90–96.

3. *Shahzadi I., Ahmed R., Hassan A. et al.* Optimization of DNA extraction from seeds and fresh leaf tissues of wild marigold (*Tagetes minuta*) for polymerase chain reaction analysis // *Genetics Mol. Res.* – 2010. – V. 9, N 1. – P. 386–393.

4. *Shinde N. V., Kanase K. G., Shilimkar V. C. et al.* Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of Solvent Extracts of *Tagetes erectus* Linn (Asteraceae) // *Trop. J. Pharm. Res.* – 2009. – V. 8, N 4. – P. 325–329.

5. *Zhang P., Li Zeng, Yan-Xue Su et al.* Karyotype Studies on *Tagetes erecta* L. and *Tagetes patula* L. // *African J. Biotechnol.* – 2011. – V. 10, N 72. – P. 16138–16144.

6. *Priyanka D., Shalini T., Navneet V. K.* A Brief Study of Marigold (*Tagetes* Species): a Review // *Inter. Res. J. Pharmacy.* – 2013. – V 4, N 1. – P. 43–48.

7. *Xu L., Chen J., Qiet H. et al.* Phytochemicals and Their Biological Activities of Plants in *Tagetes* L. // *Chinese Herbal Med.* – 2012. – V. 4, N 2. – P. 103–117.

8. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.

9. Державна фармакопея України. Доп.2. / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.

Надійшла до редакції 11.01.2014.

КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ И ПРОТИВОМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА СОЦВЕТИЙ БАРХАТЦЕВ ПРЯМОСТОЯЧИХ (*TAGETES ERECTA* L.)

**Ключевые слова:** бархатцы прямостоячие, эфирное масло, газожидкостная хроматография

А Н Н О Т А Ц И Я

*Tagetes erecta* L. – перспективное сырье для получения новых лекарственных средств. Исследования качественного состава эфирного масла бархатцев прямостоячих имеет огромное практическое и научное значение.

Целью этой работы является определение физико-химических свойств, количественного содержания и компонентного состава эфирного масла соцветий *Tagetes erecta plena* L. var. «*Hawaii*» и исследование его противомикробных свойств. Объектом исследования является эфирное масло соцветий *Tagetes erecta plena* L. var. «*Hawaii*». Растительное сырье (соцветия) собирали в 2013 г. в период цветения. Эфирное масло получали методом Клевенджера. Идентификацию и определение количественного содержания компонентов проводили методом ГЖХ–МС на хроматографе «Agilent Technology 6890 N». Хроматограммы идентифицировали по данным библиотеки масс-спектров NIST02. Противомикробную активность исследовали методом диффузии в агар с бумажных дисков.

Нами исследованы физико-химические показатели, качественный и количественный состав эфирного масла соцветий *Tagetes erecta plena* L. varieties «*Hawaii*». В составе эфирного масла идентифицировано 18 соединений, 6 из которых – впервые. Установлено их количественное содержание. Основными компонентами эфирного масла являются пиперитенон ( $300,3 \pm 0,87$  мг/кг), пиперитон ( $211,10 \pm 0,61$  мг/кг), спатуленол ( $200,10 \pm 0,59$  мг/кг), пара-цимен-8-ол ( $154,20 \pm 0,45$  мг/кг), нонакозан ( $81,10 \pm 0,22$  мг/кг), трикозан ( $60,50 \pm 0,17$  мг/кг), гептакозан ( $52,90 \pm 0,15$  мг/кг). Количественное содержание эфирного масла в соцветиях бархатцев прямостоячих сорта «Гавайи» составило  $0,50 \pm 0,04\%$ . Определено, что эфирное масло из соцветий *Tagetes erecta plena* L. varieties «*Hawaii*» проявляет выраженную противомикробную и противогрибковую активность в отношении *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), *Staphylococcus aureus* (клин.), *Klebsiella pneumoniae* (клин.), *Staphylococcus saprophytus* (клин.), *Candida albicans* (ATCC-885653).

Е. А. Malugina, A. V. Mazulin, G. P. Smoylovska, G. V. Mazulin  
Zaporizhzhia State Medical University

THE COMPONENT COMPOSITION AND ANTIMICROBAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL FROM INFLORESCENCES OF *TAGETES ERECTA* L.

**Key words:** essential oil, *Tagetes erecta* L., gas-liquid chromatography

А B S T R A C T

*Tagetes erecta* L. is the promising materials for new medicines. The study of composition of *Tagetes erecta* L. is of great practical and scientific importance.

The aim of this scientific work is the determinate of physico-chemical properties, quantitative content and composition of the essential oil from inflorescences of *Tagetes erecta plena* L. var.«*Havii*» and its antimicrobial and antifungal activity. As object of our study we choose the essential oil from inflorescences of *Tagetes erecta plena* L. var. «*Havaji*». Plant material was harvested during the flowering period in 2013. The essential oil was obtained from inflorescences by Clevenger method. We identified components of the essential oil and determinate there quantitative content by GLC method by «Agilent Technology 6890 N» chromatograph. Chromatograms were identified by NIST02 mass-spectra library.

We studied antimicrobial activity by agar diffusion method with using the paper discs. We set physical-chemical properties of the essential oil from inflorescences of *Tagetes erecta plena* L. var. «*Hawaii*». Also we discovered that there are 18 compounds in the composition of the essential oil. The quantitative content of these components was determinate. Also we discovered that 6 of these compounds were first detected. We identified, that the main compounds of the essential oil are: piperitenon ( $300,3 \pm 0,87$  mg/kg), piperiton ( $211,10 \pm 0,61$  mg/kg) spatulenol ( $211,10 \pm 0,61$  mg/kg), p-cymene-8-ol ( $154,20 \pm 0,45$  mg/kg), nonakozen ( $81,10 \pm 0,22$  mg/kg), trikozan ( $60,50 \pm 0,17$  mg/kg), heptakozen ( $52,90 \pm 0,15$  mg/kg). The amount of the essential oil from inflorescences of *Tagetes erecta plena* L. varieties «*Hawii*» was  $0,5 \pm 0,04\%$ . We determinate, that the essential oil from inflorescences of *Tagetes erecta plena* L. var. «*Hawaii*» has antimicrobic and antifungal activity against *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), *Staphylococcus aureus* (clin.), *Klebsiella pneumoniae* (clin.), *Staphylococcus saprophytus* (clin.), *Candida albicans* (ATCC-885653) (clin.).

Електронна адреса для листування з авторами: [MaluginaEA@gmail.com](mailto:MaluginaEA@gmail.com)