

УДК 582.998.1-119.2

ВЛАСТИВОСТІ СЕСКВІТЕРПЕНОВИХ ЛАКТОНІВ КУЛЬТИВОВАНИХ *in vitro* *Saussurea discolor* (Willd.) DC. ТА *S. porcii* Degen

М. М. Марченко
А. Є. Шелифіст
Л. М. Чебан

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
Чернівці, Україна

E-mail: larisa.cheban@mail.ru

Отримано 24.03.2013

За допомогою методів УФ- та ІЧ-спектроскопії в рослинній сировині *Saussurea discolor* (Willd.) DC. (сосюрея різноколірна) та *S. porcii* Degen (сосюрея Порціуса), рідкісних видів роду *Saussurea* DC., встановлено присутність сесквітерпенових лактонів. Аналогічні результати одержано й для рослин, культивованих *in vitro*. Вміст у них сесквітерпенових лактонів близький до вмісту в інтактних рослинах і вищий для *S. discolor*.

Розроблено умови вилучення (5-денною екстракцією хлороформом), очищення (адсорбційною хроматографією на колонці) та фракціонування (тонкошаровою хроматографією) смолки сесквітерпенових лактонів. За допомогою тонкошарової хроматографії виявлено якісні відмінності їхнього спектра для експлантів рослин, вирощених *in vitro*, та дикорослих рослин *S. discolor* і *S. porcii*. Рослинний матеріал обох досліджуваних видів відрізняється також за вмістом основних компонентів спектра сесквітерпенових лактонів. Виявлено його залежність від умов вирощування. Компоненти з Rf 0,36 та 0,95 містяться в усій досліджуваній сировині в максимальній кількості.

Із застосуванням методу дифузії в агар у сесквітерпенових лактонів виявлено антимікробну активність. Як тест-систему використовували *Bacillus subtilis*. Антимікробну активність встановлено для суми сесквітерпенових лактонів. Вона значною мірою зумовлена дією компонентів з Rf 0,36 та 0,95.

Одержані результати свідчать про здатність *S. discolor* та *S. porcii* синтезувати *in vitro* сесквітерпенові лактони, а також про можливість використання рослинної сировини культивованих рослин як їх джерел. Для сесквітерпенових лактонів досліджуваних видів доведено антимікробну активність.

Ключові слова: *Saussurea discolor* (Willd.) DC., *S. porcii* Degen, сесквітерпенові лактони, тонкошарова хроматографія, антимікробна активність.

Рід *Saussurea* у флорі Буковинських Карпат представлений двома видами — *S. porcii* Degen і *S. discolor* (Willd.) DC. [1]. Обидва види занесено до Червоної книги України: перший — зі статусом «рідкісний», другий — «зникаючий» [2]. Біохімічний склад та фармакологічну дію біологічно активних сполук цих рослин вивчено недостатньо. Залучення біотехнологічних методів з метою одержання рослинного матеріалу не тільки сприятиме розширенню альтернативної сировинної бази *S. discolor* і *S. porcii*, а й надасть унікальну можливість зберегти їх природні популяції.

Для рослинної сировини представників роду *Saussurea* встановлено протипухлинну [3], антимікробну та протигрибкову [4, 5] дію. Таку активність пов'язують зі здатністю синтезувати й накопичувати сесквітерпенові лактони [6, 7]. Вони являють собою кисневі похідні сесквітерпеноїдів, різноманіт-

тя яких у межах одного типу визначається ступенем насиченості кілець, розташуванням подвійних зв'язків та наявністю різних функціональних груп [8, 9]. Така різноякісність ускладнює процес виділення та ідентифікації сесквілактонів, тому одержання цих сполук у чистому вигляді потребує розроблення нових та оптимізації вже існуючих методів екстракції, очищення та ідентифікації.

У зв'язку із зазначеним метою роботи було визначити вміст сесквітерпенових лактонів дикорослих та культивованих *in vitro* *S. discolor* і *S. porcii* за розроблених нами оптимальних умов екстракції, очищення і розділення, а також дослідити їхню біологічну активність.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на листках дикорослих (по 25 експериментальних зраз-

ків) та культивованих *in vitro* *S. discolor* і *S. porcii* (не менше 50 експериментальних зразків листків експлантів, що їх вирощують у культурі більше двох років).

Матеріал *S. discolor* зібрано: Чернівецька область, Путильський р-н, Чивчинські гори, хребет Чорний Діл, г. Великий Камінь, 1 400 м н. р. м. Матеріал *S. porcii* зібрано: популяція № 1 — Івано-Франківська область, Верховинський р-н, Чивчинські гори, г. Гнетеса, 1 545 м н. р. м.; популяція № 2 — Івано-Франківська область, Верховинський р-н, Чивчинські гори, пол. Глистувата, 1 475 м н. р. м.

Умови культивування. Для введення в культуру *in vitro* використовували насіння, зібране в місцях зростання природних популяцій. Насіння знезаражували 96%-м етанолом з додаванням Tween-80 та розчином промислового препарату «Білізна» (ТУУ6-05743160.001-93), після чого його тричі промивали стерильною дистильованою водою. Далі насіння переносили на живильне середовище, основою для приготування якого слугувало середовище Мурасіге–Скуга, доповнене цистеїном [10]. Експланти одержували прямим морфогенезом. Проростки, що формувалися впродовж першого пасажу, було пересаджено на середовище для індукції утворення конгломерату пагонів, доповнене 0,1 мг/л ІОК (індолілоцтовою кислотою — індолілацетатом) та 1 мг/л БАП (6-бензамінопурином) [10].

Екстракція сесквітерпенових лактонів. Для одержання сесквітерпенових лактонів висушену до повітряно-сухого стану і подрібнену сировину вичерпно екстрагували хлороформом упродовж 5 діб за температури 21 ± 2 °С на мішалці. Розчинник відганяли під вакуумом до одержання залишку (смолки), який потім очищували методом адсорбційної хроматографії на колонці [11].

Адсорбційна хроматографія на силікагелі. Колонки розміром 1,0 : 15,0 заповнювали Silicagel L 40/100 загальноприйнятим способом [12, 13], зрівноважували бензолом до повної стабілізації стартової лінії.

Смолку, розчинену в 3 мл хлороформу, наносили на колонку й елюювали сумішшю: петролейний ефір:етилацетат (9:1). Присутність лактонного кільця у фракціях об'ємом 5 мл перевіряли за здатністю поглинати світло за довжини хвилі 214 нм на СФ-46. Відповідні фракції об'єднували і випарювали до кінцевого об'єму 1 мл [13].

Спектральний аналіз. ІЧ-спектроскопію очищеної смолки проводили у тонкій плівці з використанням бромної пластинки на SPECORD — 75IR у ділянці 1 600–1 800 cm^{-1} . Сумарний вміст сесквітерпенових лактонів визначали спектрофотометрично з *n*-диметиламінобензальдегідом [14].

Тонкошарова хроматографія (ТШХ). Якісний аналіз спектра сесквітерпенових лактонів здійснювали методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту на пластинках Silufol — UV — 254 (Чехія) в системі розчинників петролейний ефір : етилацетат (9 : 1) [14] висхідним способом відповідно до вимог Державної фармакопеї [15]. Ідентифікацію окремих компонентів проводили, витримуючи хроматографічні пластинки 5 хв за температури 120 °С після оброблення 1%-м розчином ваніліну у 20% -й H_2SO_4 [11].

Усі реактиви були вітчизняного виробництва («Макрохім»).

Виділення індивідуальних сесквітерпенових лактонів проводили за допомогою препаративної ТШХ. Зони, що відповідали індивідуальним сполукам, зішкрябували із носія та екстрагували відповідним буфером [11].

Дослідження антимікробної активності сесквітерпенових лактонів здійснювали, застосовуючи метод дифузії в агар. У чашки Петрі, розташовані на строго горизонтальній поверхні, заливали по 20 мл м'ясопептонного агару (МПА). Після застигання в середовищі за допомогою стерильного циліндра формували лунки діаметром 4,0 мм. Поверхню агару рівномірно засівали стандартизованою суспензією тест-культури *Basilus subtilis* у концентрації $1 \cdot 10^7$ КУО/мл. У лунки вносили по 20 мкл хлороформних смолок чи індивідуальних фракцій сесквітерпенових лактонів, попередньо висушених та перерозчинених у суміші диметилсульфоксид : етанол у співвідношенні 1 : 1. Аналогічний розчин використовували як контроль. Після інкубації в термостаті протягом трьох діб визначали діаметр зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки [15].

Статистична обробка даних. Усі дослідження проводили в 6-кратній повторюваності. На рисунках подано типові хроматограми. Статистичну обробку результатів виконували за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel. Відмінності результатів, що обговорюються в роботі, є вірогідними за рівня значущості $P \leq 0,05$ за критерієм Стьюдента.

Результати та обговорення

З метою встановлення наявності біологічно активних речовин у рослинній сировині передусім проводили її спектральний аналіз. Для точної ідентифікації сесквітерпенових лактонів найбільш придатним є метод ІЧ-спектроскопії, оскільки в інфрачервоній ділянці розташовано більшість коливальних і обертальних спектрів молекул [8].

Використання цього методу для аналізу смолочку із листків дикорослих та культивованих *in vitro* *S. discolor* та *S. porcii* дало змогу виявити в ІЧ-спектрі смуги поглинання, що є характерними для сесквітерпенових лактонів (1 710–1 760, 1 760–1 790 cm^{-1}) [16].

Здатність рослинного організму до синтезу вторинних метаболітів за умов *in vitro*, не властивих йому під час зростання у природних умовах, або до зміни кількісного співвідношення присутніх сполук потребує додаткового аналізу рослинної сировини за різних умов культивування. Нами було проведено порівняльний аналіз вмісту сесквітерпенових лактонів рослинної сировини, зібраної в природних місцях зростання та вирощеної *in vitro*. Для експлантів обох досліджуваних видів порівняно з вирощуваними в природних умовах було встановлено більший їх вміст (рис. 1). Максимальну кількість сесквітерпенових лактонів синтезували рослини *S. porcii* першої популяції. Водночас для експлантів *S. discolor*, порівняно з природним матеріалом, встановлено здатність накопичувати ці сполуки в 1,3 раза більше.

Рослинний матеріал *S. porcii* другої популяції, як природний, так і культивований *in vitro*, характеризується майже удвічі

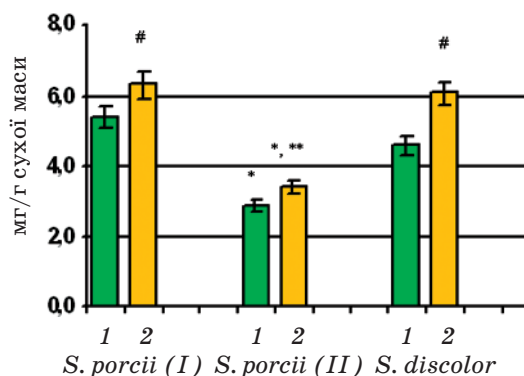


Рис. 1. Сумарний вміст сесквітерпенових лактонів у рослинній сировині *S. discolor* та двох популяцій *S. porcii* ($M \pm m$, $n = 6$, $P \leq 0,05$): 1 — природний матеріал; 2 — експланти.

* $P \leq 0,05$ *S. porcii* відносно *S. discolor*;

** $P \leq 0,05$ *S. porcii* (II) відносно *S. porcii* (I);

$P \leq 0,05$ експлантів відносно дикорослих рослин

нижчим рівнем сесквітерпенових лактонів порівняно з рівнем першої популяції, і в 1,6 раза — порівняно з експлантами *S. discolor*.

Отже, у процесі культивування *in vitro* *S. discolor* та *S. porcii* зберігають здатність до синтезу сесквітерпенових лактонів, причому їх вміст в усіх випадках вищий за вміст дикорослих рослин.

Для більш детального вивчення сесквітерпенових лактонів широко застосовують хроматографію у тонкому шарі сорбенту. Відомо, що від типу розчинника для екстракції залежить не тільки повнота вилучення досліджуваних сполук, але й їхній склад [8]. Нами було досліджено різні методи екстракції, що відрізнялися як за екстрагуючою речовиною, так і за температурним режимом. Смолки надалі аналізували за допомогою ТПХ.

На основі проведених досліджень було встановлено, що для індивідуальних сполук сесквітерпенових лактонів *S. discolor* та *S. porcii* найоптимальнішою є 5-денна хлороформна екстракція за кімнатної температури з подальшим розділенням за допомогою ТПХ з використанням як рухомої фази суміші петролейний ефір : етилацетат, та ідентифікація розчином ваніліну в сірчаній кислоті [11].

Досліджуючи спектр сесквітерпенових лактонів *S. discolor* і *S. porcii*, ми встановили відмінність у компонентному складі експлантів та листків дикорослих рослин. Так, у природному зразку *S. discolor* виявлено 9 сполук, тоді як в експлантах — 10 (рис. 2). Спільними для них є 7 компонентів, 2 з яких (R_f 0,26; R_f 0,95) характеризуються максимальним вмістом у сировині. Сполуки, R_f яких лежить у межах 0,6–0,9, мають мінімальний вміст. Слід зауважити, що саме більшість із них втрачаються під час водно-хлороформної екстракції.

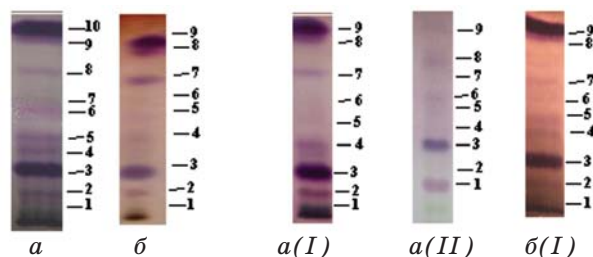


Рис. 2. Тонкошарова хроматографія експлантів рослин *in vitro* (а) та листків дикорослих рослин (б) *S. discolor* і *S. porcii*:

I — перша популяція; II — друга популяція;

1–10 — компоненти спектра сесквітерпенових лактонів

Виявлені між зразками відмінності стосуються компонентів, коефіцієнти рухливості яких лежать у межах 0,51–0,65 (таблиця).

Під час дослідження смолки *S. porcii* на хроматограмах ідентифіковано 9 компонентів, що набувають специфічного для сесквітерпенових лактонів забарвлення (рис. 2). За порівняльного аналізу рослинної сировини *S. porcii* було відзначено зміну складу сесквітерпенових лактонів залежно від умов вирощування. Варіабельною для даного виду є ділянка, яка включає сполуки з коефіцієнтами рухливості у межах 0,48–0,65 (таблиця). Сполуки з *Rf* 0,26 та 0,95, як і в тканинах *S. discolor*, присутні в рослинній сировині *S. porcii* у максимальній кількості.

Отже, в рослинній сировині *S. discolor* та *S. porcii* синтезуються сесквітерпенові лактони, а їхній якісний склад залежить від умов культивування. Спільними для обох видів є компоненти з коефіцієнтом рухливості 0,14; 0,26; 0,36; 0,90 та 0,95.

Дослідження антимікробної активності одержаних смолок за допомогою методу дифузії в агар було проведено з використанням *Bacillus subtilis*, оскільки для аналізу протимікробної активності представників роду *Saurea* як тест-культури найчастіше

використовують *B. subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa* [17–19].

Передусім нами було вивчено низькі концентрації сухої смолки (2,5, 5 та 10 мг/мл). В умовах експозиції за дії 2,5 мг/мл спостерігали появу невеликої «облямівки» посиленого росту по краю лунки. Достовірної різниці між результатами для смолок із матеріалу *S. porcii* різних популяцій виявлено не було, тому дані наведено для однієї з них (рис. 3).

Зі збільшення концентрації смолки в досліджуваному розчині препарат набував антимікробних властивостей (рис. 4). Окрім того, поступове збільшення концентрації досліджуваного розчину уможливорює виявлення відмінностей для популяцій *S. porcii*.

Далі ми проаналізували антимікробну активність індивідуальних сполук, представлених на хроматограмі у максимальній кількості (*Rf* 0,36 та *Rf* 0,95), які було одержано препаративною ТПХ. Як видно з рис. 5, обидва компоненти виявляють схожий ефект на культу-

Коефіцієнти рухливості компонентів сесквітерпенових лактонів експлантів *S. discolor* і *S. porcii*

№ п/п	Матеріал				
	<i>S. discolor</i>		<i>S. porcii</i>		
	Дикорослі рослини	Експланти	Дикорослі рослини (популяція I)	Експланти (популяція I)	Експланти (популяція II)
1	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
2	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26
3	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
4	0,43	0,43	–	–	0,43
5	–	–	0,48	0,48	–
6	–	0,51	–	–	–
7	0,53	–	–	0,53	–
8	–	0,55	–	–	–
9	–	0,60	0,60	0,60	0,60
10	0,65	–	0,65	–	0,65
11	0,75	0,75	0,75	0,75	–
12	–	–	–	–	0,81
13	–	–	–	–	0,87
14	0,90	0,90	0,90	0,90	–
15	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95

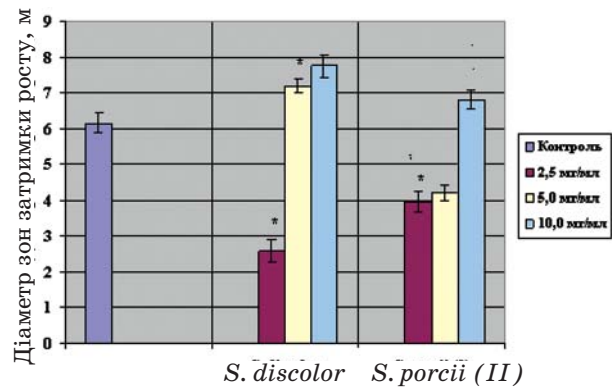


Рис. 3. Антимікробна активність хлороформних смолок із *S. discolor* та *S. porcii* у малих концентраціях (2,5/5,0/10 мг/мл) відносно *B. subtilis*. * — $P < 0,05$ відносно контролю; контроль: культивування *Bacillus subtilis* за присутності у середовищі суміші диметилсульфоксид : етанол (1 : 1)

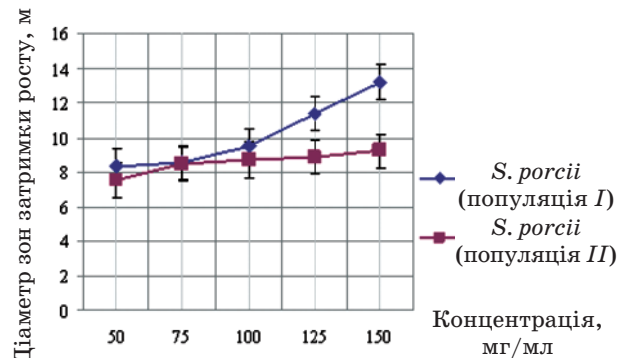


Рис. 4. Залежність антимікробної активності сухої смолки різних популяцій *S. porcii* від її концентрації

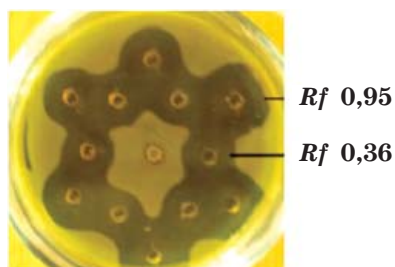


Рис. 5. Антимікробна активність індивідуальних сесквітерпенових лактонів *S. discolor* із *Rf* 0,95 ($22,68 \pm 1,46$ мм) та *Rf* 0,36 ($19,25 \pm 1,26$ мм)

ру *B. subtilis*. Діаметр зон затримки росту за дії обох індивідуальних сесквілактонів становив близько 19–23 мм, що дає змогу постулювати наявність антимікробної активності.

Підсумовуючи, можна зробити висновок, що *S. discolor* та *S. porcii* містять сесквітерпенові лактони з антимікробною активністю. Саме тому досліджувані види можуть бути використані як джерела сполук з біологічною активністю за умов розроблення ефективних

методів нарощування рослинної маси *in vitro*.

На основі хроматографічного розділення у тонкому шарі сорбенту встановлено відмінності у спектрі сесквітерпенових лактонів смолок листків дикорослих та культивованих *in vitro* рослин *S. discolor* і *S. porcii*, а також доведено, що рослини різних популяцій *S. porcii* відрізняються за складом компонентів. У результаті дослідження біологічної активності сесквітерпенових лактонів встановлено антимікробну дію їхніх хлороформних смолок, а також індивідуальних компонентів.

Таким чином, було підібрано умови вилучення, очищення та фракціонування сесквітерпенових лактонів *S. discolor* і *S. porcii*, за допомогою ТПХ виявлено відмінності у спектрі експлантів рослин *in vitro* та дикорослих рослин *S. discolor* і *S. porcii*, а також антимікробну активність сесквітерпенових лактонів, яка значною мірою зумовлена дією компонентів з *Rf* 0,36 та 0,95.

REFERENCES

1. *Tasenkevich L.* Red List of Vascular Plants of the Carpathian Mountains. *Lviv: State Museum of Natural History, NAS of Ukraine.* 2002, 29 p.
2. The Red Book of Ukraine. The plantage ed. by *J. P. Diduha.* Kyiv: *Globalconsulting.* 2009, 900 p. (In Ukrainian).
3. *Zhang S., Won Y. K., Ong Ch. N., Shen H. M.* Anticancer potential of sesquiterpene lactones: bioactivity and molecular mechanisms. *Cur. Med. Chemistry-Anti-Cancer Agents.* 2005, 5(3), 239–249.
4. *Choi S. Z., Choi S. U., Lee K. R.* Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Saussurea calcicola.* *Arch. Pharm. Res.* 2005, 28(10), 1142–1146.
5. *Pandey M. M., Govindarajan R., Ravat A. K., Palpu P.* Free radical scavenging potential of *Saussurea costus.* *Acta Pharm.* 2005, N 55, P. 297–304.
6. *Yang J-L., Wang R., Lin J-L., Shi Y-P.* Phytochemicals and biological activities of *Saussurea* species. *J. of Asian natural Products Research.* 2010, 12(2), 162–175.
7. *Yang M., Wang C. M., Zhang Q.* Sesquiterpenes, lignans and other constituents from *Saussurea macrota.* *Pharmazi.* 2004, 59(12), 972–976.
8. *Adekenov S.M., Kagarlitskii A.D.* The chemistry of sesquiterpene lactones. *Alma-Ata: Gylm.* 1990, 188 p. (In Russian).
9. *Alebastrov O.V.* The regio- and stereoselective transformations of sesquiterpene lactones. Part 1. *Int. Sci. J. Alt. Energy Ecol.* 2005, 10(30), 20–35. (In Russian).
10. *Pat. N. 65665. A01N4/00.* The method of microclonal breeding of species of *Saussurea discolor* (Willd.) DC. and *Saussurea porcii* Degen. *Marchenko M. M., Shelyfist A. E., Cheban L. M., publ.* 12.12. 2011, Bull. N 23. (In Ukrainian).
11. *Pat. N. 69107. A61K31/365.* The method of producing sesquiterpene lactones from the leaves of *Saussurea discolor* (Willd.) DC. *Marchenko M. M., Shelyfist A. E., Cheban L. M., publ.* 25.04.2012, Bull. N 8. (In Ukrainian).
12. The State Pharmacopoeia of Ukraine. Kyiv. 2004, 2000 p. (In Ukrainian).
13. *Belyakov K. V., Popov D. M.* Getting the standard sample of alantolactone. *Pharmacy.* 2004, N. 1, P. 37–39. (In Russian).
14. *Belyakov K. V.* The definition of sesquiterpene lactones in the rhizomes and roots of *Elecampane (Inula helenium L.). Pharmacy.* 2003, N. 3, P. 10–12. (In Russian).
15. *Fritsch N. I., Vivcharuk L. M., Mizyuk R. M.* The study of antimicrobial activity of plants of the heath family (*Ericaceae* Juss.). *Pharm. Magazine.* 2005, N. 2, P. 97–104. (In Russian).
16. *Marchenko M. M., Shelyfist A. E., Cheban L. M.* The characteristics of the biologically active compounds of *Saussurea porcii* Degen. *Biol. syst.* 2010, 2(1), 12–15. (In Ukrainian).
17. *Paulsen E.* Contact sensitization from Compositae-containing herbal remedies and cosmetics. *Contact Dermatitis.* 2002, 2(47), 189–198.
18. *Ren G., Yu Z. M., Chen Y. L., Wu S. H.* Sesquiterpene lactones from *Saussurea alata.* *Nat. Prod. Res.* 2007, 3(21), 221–226.
19. *Sharma R. K., Shanti S. S.* Seed germination behaviour of some medicinal plants of Lahaul and Spiti cold desert: implications for conservation and cultivation. *Cur. sci.* 2006, 90(8), 1113–1118.

**СВОЙСТВА СЕСКВИТЕРПЕНОВЫХ
ЛАКТОНОВ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ *in vitro*
Saussurea discolor (Willd.) DC.
И *S. porcii* Degen**

М. М. Марченко
А. Е. Шелифост
Л. Н. Чебан

Черновицкий национальный университет
имени Юрия Федьковича,
Черновцы, Украина

E-mail: larisa.cheban@mail.ru

С помощью методов УФ- и ИК-спектроскопии в растительном сырье *Saussurea discolor* (Willd.) DC. (соссурея разноцветная) и *S. porcii* Degen (соссурея Порциуса), редких видов рода *Saussurea* DC., установлено присутствие сесквитерпеновых лактонов. Аналогичные результаты получены и для растений, культивируемых *in vitro*. Содержание в них сесквитерпеновых лактонов близко к содержанию в интактных растениях и более высокое для *S. discolor*.

Разработаны условия извлечения (5-дневной экстракцией хлороформом), очищения (адсорбционной хроматографией на колонке) и фракционирования (тонкослойной хроматографией) смолки сесквитерпеновых лактонов. С помощью тонкослойной хроматографии обнаружены качественные различия их спектра для эксплантов растений, выращенных *in vitro*, и дикорастущих *S. discolor* и *S. porcii*. Растительный материал обоих исследуемых видов отличается также содержанием основных компонентов спектра сесквитерпеновых лактонов. Выявлена его зависимость от условий выращивания. Компоненты с *Rf* 0,36 и 0,95 в исследуемом сырье содержатся в максимальном количестве.

С применением метода диффузии в агар у сесквитерпеновых лактонов обнаружена антимикробная активность. Как тест-систему использовали *Bacillus subtilis*. Антимикробная активность установлена для суммы сесквитерпеновых лактонов. Она в значительной степени обусловлена действием компонентов с *Rf* 0,36 и 0,95.

Полученные результаты свидетельствуют о способности *S. discolor* (Willd.) DC. и *S. porcii* синтезировать *in vitro* сесквитерпеновые лактоны, а также о возможности использования растительного сырья культивируемых растений как их источников. Для сесквитерпеновых лактонов исследуемых видов доказана антимикробная активность.

Ключевые слова: *Saussurea discolor* (Willd.) DC., *S. porcii* Degen, сесквитерпеновые лактоны, тонкослойная хроматография, антимикробная активность.

**PROPERTIES OF THE SESQUITERPENE
LACTONES OF *in vitro* CULTIVATED
Saussurea discolor (Willd.) DC.
AND *S. porcii* Degen**

M. M. Marchenko
A. E. Shelifist
L. M. Cheban

Phedkovitch Chernivtsy National University,
Chernivtsy, Ukraine

E-mail: larisa.cheban@mail.ru

Using the UV- and IR-spectroscopy methods in the plantstuff of *Saussurea discolor* (Willd.) DC. and *S. porcii* Degen, that are infrequent species of the genus of *Saussurea* DC., the existence of the sesquiterpene lactones in them was determined. Similar results for the plants cultivated *in vitro* were received. The contents of the sesquiterpene lactones are approximate to the same ones in the intact plants. It was found as well that the plants of *S. discolor* have their higher total content.

We elaborated the separation criterions (under 5-days extraction of chloroform), purification (using the adsorption chromatography column) and fractionation (applying thin layer chromatography) for the amounts of the sesquiterpene lactones. By thin layer chromatography there were detected the qualitative differences of their spectrum for the explants of plants, grown *in vitro* and for the *S. discolor* and *S. porcii* wild plants. The plant material of both investigated species differs besides by the quantitative content of the main components of the sesquiterpene lactones. All the investigated materials showed maximum amounts of *Rf* 0,36 and 0,95 components.

By diffusion in agar method the existence of the antimicrobial activity of the sesquiterpene lactones was detected. The test-system was *Bacillus subtilis*. This property was conditioned mainly by the action of the components of *Rf* 0,36 and 0,95.

The results give evidence for the ability of *S. discolor* and *S. porcii* to synthesize the sesquiterpene lactones. The cultivated *in vitro* plants could be as their sources. So the sesquiterpene lactones of *S. discolor* and *S. porcii* have the antimicrobial activity.

Key words: *Saussurea discolor* (Willd.) DC., *S. porcii* Degen, sesquiterpene lactones, thin layer chromatography, antimicrobial activity.