

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

УДК 615.322:543.544

Мирович В.М.¹, Петухова С.А.¹, Дударева Л.В.²

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ВОЛОДУШКИ КОЗЕЛЕЦЕЛИСТНОЙ (*BUPLEURUM SCORZONERIFOLIUM* WILLD.), ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В ПРИБАЙКАЛЬЕ, МЕТОДОМ ВЭЖХ

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Иркутск, Россия

² ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии проведено исследование состава фенольных соединений надземных органов володушки козелецелистной (*Bupleurum scorzonerifolium* Willd.), произрастающей в Прибайкалье. Было идентифицировано 18 соединений (флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, кумарины, катехин). Преобладающими компонентами являлись: эпикатехин, катехин, эпигаллокатехингаллат; флавоноиды – изокверцетин, изорамнетин-3-глюкозид, гиперозид; фенолкарбоновые кислоты – галловая, коричная.

Ключевые слова: ВЭЖХ, фенольные соединения, флавоноиды, дубильные вещества, фенолкарбоновые кислоты, володушка козелецелистная, *Bupleurum scorzonerifolium* Willd.

STUDYING THE CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS OF *BUPLEURUM SCORZONERIFOLIUM* WILLD., GROWING IN THE BAIKAL REGION WITH HPLC

Mirovich V.M.¹, Petukhova S.A.¹, Dudareva L.V.²

¹ Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia

² Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk Russia

Phenolic compounds of plants have a wide spectrum of pharmacological action. A number of effective herbal medicines and biologically active additives have been developed on the basis of raw materials and natural polyphenols. The sources of phenolic compounds are plants of the genus *Bupleurum* L. In Russia *Bupleurum scorzonerifolium* used in folk medicine. Infusions and decoctions were taken for diseases of the liver, gall bladder, topically as an anti-inflammatory agent. The composition of phenolic compounds in the above-ground organs of the *B. scorzonerifolium* studied by HPLC on the device "GILSTON". Samples of raw materials (above-ground organs) were collected in the southern areas of the Irkutsk region. For the analysis of the herb *B. scorzonerifolium* 70% extract ethyl alcohol was used. Separation was performed on substances Kromasil C18 column (4,6 × 250 mm, 5 micron). Detection was carried out using a UV detector "GILSTON" UV/VIS model 151, at a wavelength of 254 nm. In comparison with standard samples we identified 8 flavonoids (prevailing – isoquercetin, hyperoside, isoramnetin-3-glucoside), 5 aromatic acids (predominantly acid – cinnamic, gallic, chicory). The study established the content of epicatechin, catechin, epigallocatechingallate, coumarin. For the first time the content of acids – coffee, chlorogenic, gallic, chicory, cinnamon; flavonoids – vitsenin, lyuteolin-7-glucoside, isoramnetin-3-glucoside, apigenin; epicatechin, catechin, epigallocatechingallate; coumarin – was established in *B. scorzonerifolium*.

Key words: HPLC, phenol compounds, flavonoids, tanning agents, phenolcarbonic acids, *Bupleurum scorzonerifolium* Willd.

Фенольные соединения растений обладают широким спектром фармакологического действия. На основе сырья и природных полифенолов разработан целый ряд эффективных растительных лекарственных средств и биологически активных добавок. Источниками фенольных соединений являются растения рода Володушка – *Bupleurum* L. семейства Сельдерейных – *Ariaseae*. [1]. Большинство видов этого рода – многолетние травы до 150 см в высоту с соцветиями сложные зонтики, род представлен 180–190 видами, которые широко распространены в северном полушарии. Растения рода Володушка широко используются в восточной

традиционной медицине Китая, Кореи, Японии: Володушка козелецелистная (*Bupleurum scorzonerifolium* Willd.), володушка китайская (*Bupleurum chinensis* L.), володушка серповидная (*Bupleurum falcatum* L.). В составе биологически активных веществ растений рода *Bupleurum* установлено содержание тритерпеновых сапонинов (сайкосапонины), лигнанов, эфирного масла, полисахаридов, фенольных соединений. За рубежом авторами установлена иммуномодулирующая, противовоспалительная и противовирусная активность тритерпеновых сапонинов, противоязвенную активность проявляли полисахариды,

антипролиферативную активность – лигнаны [6]. В результате фитохимического исследования 50 видов рода *Bupleurum* было выделено и идентифицировано около 250 природных соединений, относящихся к фенольным соединениям, лигнанам, терпеноидам (тритерпеновые сапонины, компоненты эфирных масел), полисахаридам, алкалоидам. Отмечается существенная разница в химическом составе видов володушек, произрастающих в Западной Европе, России, Китае, что говорит о наличии у этих растений хеморас [6].

В медицинской практике России используется только один вид рода *Bupleurum* – володушка многожилчатая (*Bupleurum multinerve* DC). Основными действующими веществами володушки многожилчатой являются флавоноиды, производные кверцетина, кемферола и изорамнетина [7]. Суммарный препарат буплерин обладает противовоспалительным, желчегонным действием и Р-витаминной активностью.

Распространение володушки многожилчатой в Прибайкалье ограничено. Она встречается изреженно и не образует зарослей, пригодных для сбора сырья. В Центральной Сибири произрастают 7 видов растений рода *Bupleurum*. На территории Иркутской области наибольшее распространение имеет володушка козелецелистная.

В народной медицине володушка козелецелистная в виде настоев и отваров применяется при заболеваниях печени, желчного пузыря, наружно – как противовоспалительное средство. Результаты исследований фармакологической активности показали, что настои из травы володушки козелецелистной обладают желчегонным действием [2]. Химический состав володушки козелецелистной изучен недостаточно. Имеются сведения о составе компонентов эфирного масла, флавоноидов [3, 4, 5, 7].

Целью настоящего исследования явилось изучение качественного состава фенольных соединений в надземных органах володушки козелецелистной, произрастающей в Прибайкалье, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись образцы сырья володушки козелецелистной (*Bupleurum scorzonifolium* Willd.), собранные в 2015 году в южных районах Иркутской области. Сырье сушили воздушно-теневым способом. Остаточная влажность сырья составляла 10 %.

Качественный состав и относительное содержание фенольных соединений определяли на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы «GILSTON» (Франция), модель 305, ручном инжекторе, модель RHEODYNE 7125 (США) с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы Мультихром для Windows.

Условия экстрагирования. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм по ГОСТ 214-83. Навеску (0,6500 г) сырья володушки козелецелистной экстрагировали 20 мл 70%-го этилового спирта на кипящей водяной бане в течение 1 часа в

колбе с обратным водяным холодильником. После охлаждения извлечение фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента» в мерную колбу объемом 25 мл и доводили до метки 70%-м этиловым спиртом. Параллельно готовили 0,05% растворы рабочих стандартных образцов в 70%-м этиловом спирте. В хроматограф вводили по 20 мкл исследуемого раствора и растворов рабочих стандартных образцов.

Условия хроматографирования: колонка Kromasil C18 (4,6 × 250 мм; 5 мкм); режим элюирования – изокритический; элюент – ацетонитрил – вода – кислота фосфорная концентрированная в соотношении 20 : 80 : 0,05. Анализ проводили при комнатной температуре. Скорость подачи элюента 0,5 мл/мин. Продолжительность анализа 40 мин. Детектирование производили с помощью УФ-детектора «GILSTON» UV/VIS, модель 151, длина волны 254 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного анализа в надземных органах володушки козелецелистной обнаружено 23 пика, из них идентифицировано 18 пиков, относящихся к фенольным соединениям. Идентифицированные вещества относятся к флавоноидам, кумаринам, фенолкарбоновым кислотам, катехинам (табл. 1).

Таблица 1
Характеристика фенольных соединений володушки козелецелистной

| № п/п | Вещество | Время удерживания, мин | Содержание в смеси, % |
|-------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| 1 | Не идентифицировано | 4,194 | 0,36 |
| 2 | Кофейная кислота | 4,643 | 0,12 |
| 3 | Хлорогеновая кислота | 4,991 | 0,12 |
| 4 | Галловая кислота | 5,370 | 9,87 |
| 5 | Цикориевая кислота | 6,656 | 0,56 |
| 6 | Катехин | 6,935 | 5,17 |
| 7 | Эпикатехин | 7,662 | 7,77 |
| 8 | Вицинин | 9,232 | 0,13 |
| 9 | Феруловая кислота | 10,360 | 0,14 |
| 10 | Кумарин | 11,850 | 0,73 |
| 11 | ЭГКГ | 12,590 | 2,55 |
| 12 | Лютеолин-7-глюкозид | 13,760 | 0,16 |
| 13 | Не идентифицировано | 15,810 | 7,91 |
| 14 | Изокверцетин | 16,410 | 4,27 |
| 15 | Не идентифицировано | 17,090 | 39,84 |
| 16 | Рутин | 18,880 | 0,38 |
| 17 | Не идентифицировано | 19,700 | 1,09 |
| 18 | Гиперозид | 21,240 | 1,39 |
| 19 | Изорамнетин-3-глюкозид | 24,040 | 3,08 |
| 20 | Не идентифицировано | 26,580 | 8,08 |
| 21 | Коричная кислота | 29,700 | 4,92 |
| 22 | Апигенин | 34,070 | 1,28 |
| 23 | Кверцетин | 36,480 | 0,09 |

Примечание. ЭГКГ – эпигаллокатехингаллат.

В сумме фенольных соединений флавоноиды составляют 11,78 %. Среди них идентифицированы: агликоны – апигенин, кверцетин; глюкозиды – виценин, лютеолин-7-глюкозид, изокверцетин, рутин, гиперозид, изорамнетин-3-глюкозид. На долю фенолкарбоновых и коричных кислот приходится 15,73 %. Установлено содержание фенолкарбоновых кислот – кофейной, хлорогеновой, галловой, цикориевой, феруловой, а также коричной кислоты.

Определено содержание эпикатехина (7,77 %), катехина (5,17 %), эпигаллокатехингаллата (2,55 %), кумарина (0,73 %).

Таким образом, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в надземных органах володушки козелецелистной идентифицировано 18 фенольных соединений. Впервые для володушки козелецелистной установлено содержание кислот (кофейной, хлорогеновой, галловой, цикориевой, коричной), флавоноидов (виценина, лютеолин-7-глюкозида, изорамнетин-3-глюкозида, апигенина), эпикатехина, катехина, эпигаллокатехингаллата, кумарина.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Бирюкова Н.М., Островская А.М., Соколов В.Г., Кухарева Л.В., Игнатенко В.А., Гиль Т.В. Исследование содержания и состава флавоноидов и фенолкарбоновых кислот растений рода *Bupleurum L.*, культивируемых в Беларуси // Вестник фармации. – 2011. – № 4. – С. 23–30.

Biryukova NM, Ostrovskaya AM, Sokolov VG, Kukhareva LV, Ignatenko VA, Gil TV. (2011). Studying the content and composition of flavonoids and phenol carbonic acid in *Bupleurum L.* plants cultivated in Belarus [Issledovanie soderzhaniya i sostava flavonoidov i fenolkarbonovykh kislot rasteniy roda *Bupleurum L.*, kul'tivirovannykh v Belarusi]. *Vestnik farmatsii*, (4), 23-30.

2. Вогралак В.Е., Кристер Э.Э., Виленчик С.В. Володушка как новое желчегонное растение // Новые лекарственные растения Сибири, их лечебные препараты и применение. – Томск, 1946. – Вып. 2. – С. 102–104.

Vogralik VE, Krister EE, Vilenchik SV. (1946). Thoroughwax as a new choleric plant [Volodushka kak novoe zhelchegonnoe rastenie]. *Novye lekarstvennye rasteniya Sibiri, ikh lechebnye preparaty i primeneniye*, (2), 102-104.

3. Зыкова И.Д., Ефремов А.А. Володушка козелецелистная: компонентный состав эфирного масла надземной части // Сибирский медицинский журнал. – 2014. – № 2. – С. 97–98.

Zykova ID, Efremov AA. (2011). *Bupleurum scorzoniferifolium*: component analysis of essential oil of the aerial organ [Volodushka kozeletselistnaya: komponentnyy sostav efirnogo masla nadzemnoy chasti]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*, (2), 97-98.

4. Петухова С.А., Посохина А.А., Карсунова И.В. Флавоноиды представителей рода *Bupleurum L.* южных районов Центральной Сибири // Республиканский научный журнал «VESTNIK». – 2016. – Т. 4, № 4. – С. 96–97.

Petukhova SA, Posokhina AA, Karsunova IV (2016). Flavonoids of the genus *Bupleurum L.* of southern regions of the Central Siberia [Flavonoidy predstaviteley roda *Bupleurum L.* yuzhnykh rayonov Tsentral'noy Sibiri]. *Respublikanskiy nauchnyy zhurnal «VESTNIK»*, 4 (4), 96-97.

5. Тыхеев Ж.А. Володушка козелецелистная: компонентный состав эфирного масла и липидной фракции надземной части флоры Бурятии, Забайкальского края и Монголии // Экология России и сопредельных территорий: Матер. XIX междунар. конф. – Новосибирск, 2014. – С. 213.

Tyheev ZhA. (2014). *Bupleurum scorzoniferifolium*: component composition of essential oils and lipid fraction of the aerial part of the flora of Buryatia, Trans-Baikal region and Mongolia [Volodushka kozeletselistnaya: komponentnyy sostav efirnogo masla i lipidnoy fraktsii nadzemnoy chasti flory Buryatii, Zabaykal'skogo kraya i Mongolii]. *Ekologiya Rossii i sopredel'nykh territoriy: Materialy XIX mezhdunarodnoy konferentsii*. Novosibirsk, 213.

6. Ashour ML, Wink M. (2010). Genus *Bupleurum*: a review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action. *J. Pharmacy Pharmacol.*, 63 (3), 305-321.

7. Olennicov DN, Partilkaev VV. (2013) Flavonoids and phenylpropanoids from several species of *Bupleurum* growing in Burytia *Chemistry of Natural Compounds*, 48 (6), 1078-1082.

Сведения об авторах Information about the authors

Мирович Вера Михайловна – доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 10; тел. (3952) 24-34-47; e-mail: mirko02@yandex.ru)

Mirovich Vera Mikhailovna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Head of the Department of Pharmacognosy and Botany of Irkutsk State Medical University (664003, Irkutsk, ul. Karla Marksa, 10; tel. (3952) 24-34-47; e-mail: mirko02@yandex.ru)

Петухова Светлана Андреевна – аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: lanapetukhova@gmail.com)

Petukhova Svetlana Andreevna – Postgraduate at the Department of Pharmacognosy and Botany of Irkutsk State Medical University (e-mail: lanapetukhova@gmail.com)

Дударева Любовь Виссарионовна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией физико-химических методов исследования ФГБУН Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132; тел. (3952) 42-58-92; e-mail: laser@sifibr.irk.ru)

Dudareva Lyubov Vissarionovna – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Physical and Chemical Methods of Research of Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (664033, Irkutsk, ul. Lermontova, 132; tel. (3952) 42-58-92; e-mail: laser@sifibr.irk.ru)