

фармакологии; Мондодоев Александр Гаврилович — д.м.н., заведующий лабораторией экспериментальной фармакологии; Урбанова Екатерина Зориктуевна — аспирант лаборатории экспериментальной фармакологии; Николаев Сергей Матвеевич — д.м.н., проф., главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии ИОЭБ СО РАН.

Information about the Authors: Gulyaev Sergey M. — MD, PhD, senior researcher, Laboratory of experimental pharmacology, Institute of General and Experimental Biology, SB RAS; Fedorova Anna V. — postgraduate student, Laboratory of experimental pharmacology, Institute of General and Experimental Biology, SB RAS; Lemza Sergei V. — PhD, senior researcher, Laboratory of experimental pharmacology, Institute of General and Experimental Biology, SB RAS; Mondodoev Aleksandr G. — MD, PhD, DSc, Head of Laboratory of experimental pharmacology, Institute of General and Experimental Biology, SB RAS; Urbanova Ekaterina Z. — postgraduate student, Laboratory of experimental pharmacology, Institute of General and Experimental Biology, SB RAS; Nikolaev Sergei M. — MD, PhD, DSc, Prof., Laboratory of experimental pharmacology, Institute of General and Experimental Biology, SB RAS.

© МИРОВИЧ В.М., САМБАРОВ А.Л., МУРАШКИНА И.А., СЫРОВАТСКИЙ И.П., ИНОЗЕМЦЕВ П.О. — 2015
УДК 615.322

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ОЧАНКИ ГРЕБЕНЧАТОЙ (*EUPHRASIA PECTINATA* TEN.), ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В ПРИБАЙКАЛЬЕ, МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Вера Михайловна Мирович, Андрей Леонидович Самбаров, Ирина Анатольевна Мурашкина,
Игорь Петрович Сыроватский, Павел Олегович Иноземцев

(Иркутский государственный медицинский университет, ректор — д.м.н., проф. И.В. Малов,
кафедра фармакогнозии и ботаники, зав. — д.ф.н. В.М. Мирович;
кафедра технологии лекарственных форм, зав. — к.ф.н., доц.

В.В. Гордеева, кафедра фармацевтической и токсикологической химии, зав. — д.х.н., проф. Е.А. Илларионова)

Резюме. Проведено исследование состава фенольных соединений надземных органов очанки гребенчатой, произрастающей в Прибайкалье. Для этого был использован метод ВЭЖХ, исследование проводили на приборе «GILSTON». Было идентифицировано 15 соединений (флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, кумарины, танин). Преобладающие компоненты: флавоноиды — дигидрокверцетин, лутеолин, диосметин-7- β -D-глюкуронозид; фенолкарбоновые кислоты — галловая, кофейная.

Ключевые слова: *Euphrasia pectinata*, ВЭЖХ, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты.

STUDY OF COMPOSITION OF PHENOLIC COMPOUNDS OF *EUPHRASIA PECTINATA* TEN. GROWING IN THE BAIKAL REGION BY HPLC METHOD

V.M. Mirovich, A.L. Sambarov, I.A. Murashkina, I.P. Syrovatskiy, P.O. Inozemcev
(Irkutsk State Medical University, Russia)

Summary. The study of the phenolic compounds in aboveground organs of *Euphrasia pectinata* Ten. growing in the Baikal region. This research was done with the HPLC method and was studied with «GILSTON» instrument. 15 compounds were identified (flavonoids, phenolic acids, coumarins, tanninum). Predominant components: dihydroquercetin, luteolin, diosmetin-7- β -D-glucuronozide; phenolcarboxylic acids — gallic acid, caffeic acid.

Key words. *Euphrasia pectinata*, HPLC method, flavonoids, phenolcarboxylic acids.

Потребность медицинской практики в использовании лекарственных растений и препаратов на их основе в последние годы возрастает. Растительные средства мягко и гармонично воздействуют на системы организма при минимальном количестве побочных эффектов в условиях длительного применения.

Растения рода *Euphrasia* L. на территории Сибири представлены 29 видами. Растения рода *Euphrasia* содержат комплекс биологически активных веществ (БАВ), таких как флавоноиды, иридоиды, дубильные вещества, фенолкарбоновые кислоты, стероиды, кумарины [1,3].

В Восточной Сибири широко распространена и имеет достаточную сырьевую базу очанка гребенчатая — *Euphrasia pectinata* Ten. семейства норичниковые *Scrophulariaceae*. В народной медицине настоек и спиртовых извлечений из надземных органов применяют при глазных заболеваниях, гастроэнтеритах, нарушениях памяти, для снижения кровяного давления, как

противовоспалительное средство [2]. По сведениям литературных источников химический состав видов рода *Euphrasia* сибирского региона изучен недостаточно, кроме того, растения рода *Euphrasia* представляют собой географо-морфологические расы, и их экологическая пластичность требует изучения видов из разных точек ареала [1].

Применение в народной медицине, недостаточность изученности химического состава *Euphrasia pectinata*, произрастающей на территории Восточной Сибири, является основанием изучения этого вида.

Целью исследования являлось изучение состава фенольных соединений надземных органов *Euphrasia pectinata*, произрастающей в Прибайкалье.

Материалы и методы

Объектом исследования служила трава *Euphrasia*

Таблица 1
Характеристика фенольных соединений *Euphrasia pectinata*

№ п/п	Вещество	Время удерживания, мин	Содержание в смеси, %
1	о-кумаровая кислота	2,80	3,87
2	танин	3,14	8,64
3	галловая кислота	3,43	51,38
4	эпигаллокатехингаллат	4,65	4,50
5	хлорогеновая кислота	5,44	3,07
6	кофейная кислота	7,04	8,40
7	диосметин-7-β-D-глюкуронозид	8,61	2,42
8	дикумарин	9,94	2,64
9	дигидрохверцетин	11,28	2,78
10	феруловая кислота	13,00	4,46
11	лютеолин	14,83	3,24
12	цинарозид	18,31	0,51
13	рутин	20,67	1,37
14	нарингин	21,96	1,03
15	неидентифицировано	25,23	0,86
16	неидентифицировано	28,09	0,53
17	о-метоксикумарин	31,93	0,30
Итого			100

pectinata, собранная 20.06.2012 г. в период цветения в Иркутской области, в окрестностях с. Ново-Грудиного. Собранные образцы сырья сушили в тени под навесом. Видовая принадлежность определена к.б.н. Г.И. Бочаровой, гербарные образцы хранятся на кафедре фармакогнозии и ботаники ИГМУ.

Для проведения анализа извлечение из травы *Euphrasia pectinata* получали по методике: сырье измельчали до частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм, около 5 г сырья помещали в колбу на 100 мл, прибавляли 50 мл 70% спирта этилового, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 часа. После охлаждения извлечения фильтровали через бумажный фильтр.

Далее 2 мл профильтрованного извлечения помещали в мерную колбу на 10 мл и доводили 70% спиртом этиловым до метки. Получили разведение 1:5 (исследуемый образец).

Параллельно готовили серию 0,05% растворов стандартных образцов в 70% спирте этиловом: рутина, кверцетина, лютеолина, цинарозида, кемпферола, кумарина, гиперозида, геспередина, апигенина, галловой кислоты, кофейной кислоты, хлорогеновой кислоты, о-кумаровой кислоты, неохлорогеновой кислоты, коричной кислоты, цикориевой кислоты, феруловой кислоты, танина, эпикатехина, катехина, нарингина, дикумарина, диосметин-7-β-D-глюкуронозида, дигидрохверцетина, о-метоксикумарина, эпигаллокатехингаллата. Изучение состава фенольных соединений проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы «GILSTON», модель 305, ФРАНЦИЯ; инжектор ручной, модель RHEODYNE 7125 USA с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы «Мультихром» для «Windows».

Для разделения веществ была использована металлическая колонка размером 4,6x250 мм Kromasil C 18, размер частиц 5 микрон.

В качестве подвижной фазы применяли раствор метанол — вода — фосфорная кислота концентрированная — тетрагидрофуран, в соотношении 370: 570 : 5 : 60. Анализ проводили при комнатной температуре. Скорость подачи элюента 0,8 мл/мин.

Продолжительность анализа 60 мин. Детектирование проводилось с помощью УФ-детектора «GILSTON» UV/VIS модель 151, при длине волны 254 нм.

В хроматограф вводили по 50 мкл исследуемого образца и растворов стандартных образцов. Идентификацию разделенных веществ, проводили путем сопоставления времен удерживания пиков анализируемой пробы со временами удерживания стандартов. Количественное соотношение компонентов в исследуемом образце рассчитывали по площади пиков методом внутренней нормализации.

Результаты и обсуждение

По результатам анализа в спиртовом извлечении травы *Euphrasia pectinata* было обнаружено 17 пиков веществ, из них идентифицировано 15 соединений. Все идентифицированные вещества относятся к фенольным соединениям. Трава *Euphrasia pectinata* содержит флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, кумарины и дубильные вещества (табл. 1).

На долю флавоноидов в сумме фенольных соединений приходится 11,35%. Среди них идентифицированы: свободные агликоны — дигидрохверцетин, лютеолин; гликозиды — диосметин-7-β-D-глюкуронозид, рутин, нарингин, цинарозид. В сумме флавоноидов преобладают дигидрохверцетин, лютеолин и диосметин-7-β-D-глюкуронозид. Из фенолкарбоновых кислот идентифицировано 5 соединений, на долю которых приходится 71,18% всей суммы соединений. Отмечается высокое содержание в *Euphrasia pectinata* галловой кислоты (51,38%) и кофейной кислоты (8,40%). На долю кислот о-кумаровой, хлорогеновой и феруловой в сумме приходится 11,40%.

Из кумаринов были идентифицированы 2 соединения: дикумарин (2,64%) и о-метоксикумарин (0,30%).

Из группы дубильных веществ в *Euphrasia pectinata* содержится танин и эпигаллокатехингаллат, на долю которых приходится 8,64 и 4,50% соответственно.

Таким образом, в очанке гребенчатой (*Euphrasia pectinata* Ten.), произрастающей в Прибайкалье, методом ВЭЖХ идентифицировано 15 соединений. Флавоноиды — дигидрохверцетин, лютеолин, цинарозид, рутин, нарингин, диосметин-7-β-D-глюкуронозид; фенолкарбоновые кислоты — о-кумаровая кислота, галловая кислота, хлорогеновая кислота, кофейная кислота, феруловая кислота; кумарины — дикумарин, о-метоксикумарин; танин; эпигаллокатехингаллат. Впервые обнаружены в *Euphrasia pectinata* рутин, нарингин, диосметин-7-β-D-глюкуронозид, о-кумаровая кислота, дикумарин, о-метоксикумарин, танин, эпигаллокатехингаллат. Сумма флавоноидов в составе фенольного комплекса составляет 11,35%, а фенолкарбоновых кислот — 71,18%.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки. Исследователи несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и иных взаимодействиях. Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

Работа поступила в редакцию: 28.04.2015 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусарова Г.А. Систематика видов *Euphrasia* L. (*Scrophulariaceae*) России и сопредельных стран: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — СПб., 2000. — 18 с.
2. Телятьев В.В. Полезные растения Центральной Сибири. — Иркутск: Восточно-Сибирское книжное изд-во, 1987. — 400 с.
3. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. — СПб., 1995. — 992 с.

REFERENCES

1. Gusarova G.A. Systematics of species *Euphrasia* L. (*Scrophulariaceae*) Russia and adjacent countries: Synopsis thesis PhD. — St. Petersburg, 2000. — 18 p. (in Russian)
2. Teljat'ev V.V. Usefull Plants of Central Siberia. — Irkutsk: Vostochno-Sibirskoe Knizhnoe Isdatelstvo, 1987. — 400 p. (in Russian)
3. Cherepanov S.K. Vascular Plants of Russia and adjacent states. — St. Petersburg, 1995. — 992 p. (in Russian)

Информация об авторах: Минович Вера Михайловна — д.ф.н., заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники, 664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 10, тел. (3952) 243447, e-mail: mirko02@yandex.ru; Самбаров Андрей Леонидович — аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники, e-mail: asambarov@mail.ru; Мурашкина Ирина Анатольевна — к.ф.н., доцент кафедры технологии лекарственных форм, e-mail: murashkin.leha@mail.ru; Сыроватский Игорь Петрович — к.ф.н., доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии, e-mail: ips1961@rambler.ru; Иноземцев Павел Олегович — лаборант кафедры фармацевтической и токсикологической химии, e-mail: thiopentalum@yandex.ru.

Information About The Author: Mirovich Vera Michailovna — PhD, DSc in Pharmacy, Head of the Department of Pharmacognosy and Botany, 664003, Russia, Irkutsk, Karla Marksa st., 10, tel. (3952) 243447, e-mail: mirko02@yandex.ru; Sambarov Andrei Leonidovich — PhD student of the Department of Pharmacognosy and Botany, e-mail: asambarov@mail.ru; Murashkina Irina Anatol'evna — PhD in Pharmacy, Associate Professor of Technology of Medicinal Forms, e-mail: murashkin.leha@mail.ru; Syrovatskyi Igor' Petrovich — PhD in Pharmacy, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, e-mail: ips1961@rambler.ru; Inozemcev Pavel Olegovich — Assistant of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, e-mail: thiopentalum@yandex.ru.