

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

НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В НАДЗЕМНЫХ ОРГАНАХ ВОЛОДУШКИ КОЗЕЛЕЦЕЛИСТНОЙ (*BUPLEURUM SCORZONERIFOLIUM* WILLD.), ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В ПРИБАЙКАЛЬЕ

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

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

В надземных органах володушки козелецелистной (*Bupleurum scorzonerifolium* Willd.), произрастающей в Прибайкалье, накапливаются флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества. Наибольшее разнообразие качественного состава флавоноидов характерно для листьев. По количественному содержанию флавоноидов, дубильных веществ и фенолкарбоновых кислот надземные органы изучаемого растения неравноценны, больше всего фенольных соединений накапливается в листьях и цветках растения в период цветения.

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

ACCUMULATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE AERIAL ORGANS OF *BUPLEURUM SCORZONERIFOLIUM* WILLD., GROWING IN THE BAIKAL REGION

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

A plant of the genus *Bupleurum* L. is being introduced into medical practice and being used in traditional medicine as an anti-inflammatory agent in diseases of the gastrointestinal tract, treatment of diseases of the liver and gall bladder. In folk medicine, infusion from the herb *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. is used externally for inflammatory diseases of the eyes and skin diseases. *B. scorzonerifolium* is widespread and abundantly grows in the area of Ural Mountains, Altai, Tuva, in the Krasnoyarsk region, Baikal region, and Buryatia. Detection of phenolic compounds in *B. scorzonerifolium* was performed using qualitative analytical reactions. Studying the composition of flavonoids and phenol carbonic acids was carried out by paper chromatography. We established that the leaves of *B. scorzonerifolium* contain quercetin, kaempferol, rutin, hyperoside and isorhamnetin, stems – quercetin, kaempferol, rutin and isorhamnetin, flowers – quercetin, hyperoside and rutin. The leaves, flowers and stems found to contain caffeic, chlorogenic and ferulic acids. The quantitative content of tannins was determined by permanganometry method, flavonoids and phenol carbonic acids – by spectrophotometric method. The maximum quantity of phenolic compounds is detected in leaves and flowers. Thus, as a medicinal plant, the grass *B. scorzonerifolium* can be recommended for harvesting during the flowering period.

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

Среди лекарственных средств, применяемых в медицинской практике, около 40 % приходится на препараты растительного происхождения. Интерес к лекарственным растениям постоянно растёт, так как, по сравнению с синтетическими, лекарственные средства растительного происхождения действуют на организм человека более мягко и дают меньше побочных эффектов. Больным с хроническими заболеваниями растительные средства можно применять длительное время. Лекарственные растения содержат комплекс биологически активных веществ, которые обуславливают широту их фармакологического действия на организм человека [4].

На территории Восточной Сибири произрастает володушка козелецелистная – *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. семейства сельдерейных (*Apiaceae*). Это многолетнее поликарпическое стержнекорневое травянистое растение. Стебли до 60 см высотой, одиночные или в числе нескольких. Прикорневые и нижние стеблевые листья узколанцетные, одинаковой длины от 3 до 15 см, верхние листья сидячие линейно-ланцетовидные, суженные

к обоим концам. Цветки мелкие пятимерные, венчик окрашен в жёлтый цвет. Цветки собраны в соцветия сложные зонтики, образующие на концах побегов рыхлые метельчатые соцветия. Обвёртка зонтика малозаметная, обвёрточки зонтичков из 5–6 ланцетовидных листочков, равных или длиннее зонтика. Плод – вислоплодик 2,0–2,5 мм длиной [5].

Естественный ареал володушки козелецелистной охватывает Западную и Восточную Сибирь. Вид распространён в Зауралье, на Алтае, в Туве, в Красноярском крае, Прибайкалье, Бурятии. Редко встречается в Приморье и Приамурье, отдельные фрагменты ареала отмечены в Монголии и Китае. В Восточной Сибири володушка козелецелистная образует заросли на степных лугах, открытых каменистых склонах и имеет достаточные сырьевые ресурсы для промышленного использования [6].

Известны народные названия володушки козелецелистной – волчий дуб, недужница, желчица. В народной медицине она применяется как противовоспалительное средство при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Настой травы применяют

при болезнях печени и желчного пузыря, а также как лёгкое слабительное. Кроме того, настой травы володушки козелецелистной применяют как средство, стимулирующее центральную нервную систему, используют наружно при конъюнктивитах глаз, зудящих и гнойничковых заболеваниях кожи. Работами отечественных учёных определено желчегонное и сокогонное действие настоев травы володушки козелецелистной [3]. Исследованиями, проведёнными в Китае, установлена противоопухолевая активность экстракта из корней володушки козелецелистной [7].

Володушка козелецелистная содержит аскорбиновую кислоту, каротин, флавоноиды, кумарины, сапонины (сайкосапонины А, С, D), дубильные вещества и эфирное масло (β -мирцен, лимонен) [2, 3, 7].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение динамики накопления фенольных соединений в надземных органах володушки козелецелистной, влияния фазы вегетации на их количественное содержание.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлась надземная часть володушки козелецелистной – трава, собранная в период цветения в июне-августе 2015 г. на территории Иркутской области (Иркутский, Усольский районы, Усть-Ордынский Бурятский округ). Сырьё сушили воздушно-тёплым способом. Остаточная влажность сырья составляла 10 %.

Обнаружение дубильных веществ проводили в водных извлечениях в соотношении 1:10, использовали реакции осаждения с 1%-м раствором желатина и 1%-м раствором хлорида хинина, а также реакцию окрашивания с раствором железо-аммонийных квасцов. Для обнаружения флавоноидов получали извлечение из сырья (листья, цветки, стебли трава) 70%-м этиловым спиртом при соотношении сырьё – экстрагент 1:10 и проводили пробу Синода. Появление розово-красного окрашивания указывало на присутствие флавоноидов. Качественный состав флавоноидов в изучаемом сырье исследовали методом двумерной хроматографией на бумаге марки «Санкт-Петербургская М». Для разделения веществ использовали в первом направлении систему н-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2) (I), во втором направлении – 15%-ю уксусную кислоту (II). Хроматограммы просматривали в видимом и УФ-свете до и после проявления парами аммиака и 1%-м спиртовым раствором хлорида алюминия. Идентификацию соединений проводили со стандартными образцами. Фенолкарбоновые кислоты обнаруживали методом бумажной хроматографии в системах 2%-я уксусная кислота (III) и II по флюоресценции пятен на хроматограмме в УФ-свете.

Количественное содержание дубильных веществ определяли перманганатометрическим методом [1]. Для определения количественного содержания флавоноидов использовали спектрофотометрический метод, основанный на реакции комплексообразования с хлоридом алюминия. Измерение оптической плотности проводили при длине волны 412 нм, в

качестве стандартного образца использовали рутин. Содержание суммы фенолкарбоновых кислот определяли методом прямой спектрофотометрии, оптическую плотность измеряли при длине волны 325 нм. Для расчёта количественного содержания использовали удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при 325 нм, равный 504,425. Оптическую плотность анализируемых образцов измеряли на спектрофотометре LEKI SS1207UV. Анализ проводили в 6 повторностях, результаты статистически обрабатывали с помощью программ Statistica и MS Excel по методике ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами было установлено содержание в траве володушки козелецелистной флавоноидов – кверцетина, кемпферола, рутина и изорамнетины [2]. Предварительный химический анализ показал содержание в листьях, цветках и стеблях володушки козелецелистной дубильных веществ, флавоноидов и фенолкарбоновых кислот. Методом двумерной бумажной хроматографии в системах I, II изучено распределение флавоноидов по органам растения. Установили содержание в листьях кверцетина, кемпферола, рутина, гиперозида и изорамнетины, в цветках кемпферол и изорамнетин отсутствовали. Для стеблей характерно накопление кверцетина, кемпферола, рутина и изорамнетины. Во всех надземных органах володушки козелецелистной установлено содержание кофейной, хлорогеновой и феруловой кислот.

Для изучения накопления количества фенольных соединений по органам растения использовали сырьё володушки козелецелистной, собранной в период цветения. Максимальное содержание дубильных веществ отмечается в листьях и цветках, наименьшее – в стеблях. В траве накапливается $8,02 \pm 0,21$ % дубильных веществ. Максимальное количество флавоноидов и фенолкарбоновых кислот также накапливается в листьях и цветках. Стебли накапливают этих соединений почти в три раза меньше, чем листья. В траве найдено $4,39 \pm 0,08$ % флавоноидов, $4,86 \pm 0,10$ % фенолкарбоновых кислот (табл. 1).

Таблица 1
Количественное содержание дубильных веществ, суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в надземных органах володушки козелецелистной в период цветения (место сбора – Иркутская область, Иркутский район)

Органы растения	Содержание, %		
	Дубильные вещества	Сумма флавоноидов	Сумма фенолкарбоновых кислот
Трава	$8,02 \pm 0,21$	$4,39 \pm 0,08$	$4,86 \pm 0,10$
Цветки	$9,82 \pm 0,24$	$5,33 \pm 0,09$	$4,40 \pm 0,08$
Листья	$10,89 \pm 0,13$	$5,11 \pm 0,11$	$5,28 \pm 0,08$
Стебли	$3,52 \pm 0,13$	$1,36 \pm 0,03$	$1,53 \pm 0,04$

Учитывая распределение в надземных органах володушки козелецелистной дубильных веществ,

Таблица 2

**Содержание дубильных веществ, суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в надземных органах
володушки козелецелистной в зависимости от фазы вегетации
(место сбора – Иркутская область, Иркутский район)**

Фаза вегетации	Содержание, %		
	Дубильные вещества	Сумма флавоноидов	Сумма фенолкарбоновых кислот
Вегетация	3,68 ± 0,15	2,00 ± 0,14	2,13 ± 0,16
Цветение	8,02 ± 0,21	4,39 ± 0,08	4,86 ± 0,10
Начало плодоношения	6,10 ± 0,20	3,68 ± 0,17	3,41 ± 0,12
Плодоношение	5,85 ± 0,18	2,71 ± 0,10	2,38 ± 0,19

Таблица 3

**Содержание дубильных веществ, суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в надземных органах
володушки козелецелистной в период цветения в зависимости от места сбора**

Место сбора	Место обитания	Содержание, %		
		Дубильные вещества	Сумма флавоноидов	Сумма фенолкарбоновых кислот
Иркутская обл., Иркутский р-н, окр. с. Смоленщина	Суходольный луг	8,02 ± 0,21	5,23 ± 0,07	4,86 ± 0,10
Иркутская обл., Усть-Ордынский Бурятский округ, окр. с. Ординск	Остепнённый луг	9,20 ± 0,15	5,56 ± 0,10	3,66 ± 0,09
Иркутская обл., Усольский р-н окр. п. Мишелёвка	Смешанный разнотравный лес	5,34 ± 0,12	4,18 ± 0,10	2,56 ± 0,08

флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, в качестве лекарственного растительного сырья можно рекомендовать траву.

Изучение динамики накопления количества фенольных соединений в зависимости от фазы вегетации показало, что имеется общая закономерность для дубильных веществ, флавоноидов и фенолкарбоновых кислот. В период вегетации отмечается наименьшее их содержание, максимум достигается в период цветения. В фазу начала плодоношения и фазу плодоношения количественное содержание этих биологически активных веществ снижается в 1,5–2 раза (табл. 2).

На количественное содержание фенольных соединений оказывают влияние экологические условия места произрастания. Больше количество фенольных соединений накапливают растения, произрастающие на суходольных и остепнённых лугах (табл. 3).

Таким образом, надземные органы володушки козелецелистной (листья, цветки, стебли) накапливают дубильные вещества, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты и рекомендуются для использования в медицинской практике. Максимальное количество фенольных соединений приходится на период цветения, и данная фаза вегетации может быть рекомендована для заготовки сырья.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Государственная фармакопея Российской Федерации [Электронный ресурс] / Под ред. Г.В. Авраменко, О.Г. Потанина, Е.В. Буданова. – М., 2015. – Режим доступа: <http://femb.ru/feml>.

Avramenko GV, Potanin OG, Budanov EV (eds.). (2015). The State Pharmacopoeia of the Russian Federation [*Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii*]. Moskva. Available at: <http://femb.ru/feml>.

2. Петухова С.А., Мирович В.М. Состав биологически активных веществ володушки козелецелистной (*Bupleurum scorzonrifolium* Willd.) – травы, произрастающей в Восточной Сибири // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Ижевск, 2016. – Вып. 71. – С. 57–59.

Petukhova SA, Mirovich VM (2016). Composition of biologically active substances of *Bupleurum scorzonrifolium* Willd. – a grass growing in the Eastern Siberia [Sostav biologicheskii aktivnykh veshchestv volodushki kozeletselistnoy (*Bupleurum scorzonrifolium* Willd.) – travy, proizrastayushchey v Vostochnoy Sibiri]. *Razrabotka, issledovanie i marketing novoy farmatsevticheskoy produktsii: sbornik nauchnykh trudov*. Izhevsk, (71), 57–59.

3. Растительные ресурсы СССР. Семейство Rutaceae – Elaeagnaceae. – Л.: Наука, 1988. – Т. 4. – 335 с.

Plant resources of the USSR. Rutaceae – Elaeagnaceae family. (1988). [*Rastitel'nye resursy SSSR. Semeystvo Rutaceae – Elaeagnaceae*], Leningrad, (4), 335 p.

4. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитотерапевтика. – М.: МИА, 2000. – 973 с.

Sokolov SY. (2000). Phytotherapy and phytopharmacology [*Fitoterapiya i fitofarmakologiya*]. Moskva, 973 p.

5. Флора Центральной Сибири / Под ред. П.И. Малышевой, Г.А. Пешковой. – Новосибирск, 1979. – Т. 2. – С. 676.

Malysheva PI, Peshkova GA (eds.). (1979). Flora of the Central Siberia [*Flora Tsentral'noy Sibiri*]. Novosibirsk, (2), 676 p.

6. Чудновская Г.В. Володушка козелецелистная (*Bupleurum scorzonerifolium* Willd.) в Восточном Забайкалье // Вестник ТГПУ. – 2013. – № 8. – С. 43–47.

Chudnovskaya GV (2013). *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. in the Eastern Transbaikalia [Volodushka kozeletselistnaya (*Bupleurum scorzonerifolium* Willd.) v Vostochnom Zabaykal'e]. *Vestnik TGPU*, (8), 43-47.

7. Cheng YL, Chang WL, Lee SC, Liu YG, Lin HC, Chen CJ, Yen CY, Yu DS, Lin SZ, Harn HJ. (2003). Acetone extract of *Bupleurum scorzonerifolium* inhibits proliferation of A549 human lung cancer cells via inducing apoptosis and suppressing telomerase activity. *Life Sci.*, 73, 2383-2394.

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 Mikhaylovna – 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)