

В.М. Минович¹, А.Л. Самбаров¹, Л.В. Дударева², Е.Г. Рудиковская², Д.Н. Оленников³,
И.А. Мурашкина¹

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В НАДЗЕМНЫХ ОРГАНАХ ОЧАНКИ ГРЕБЕНЧАТОЙ (*EUPHRASIA PECTINATA* TEN.), ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ СИБИРИ

¹ ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, Иркутск, Россия

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

³ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, Улан-Удэ, Россия

Методом ВЭЖХ проведено исследование фенольных соединений *E. pectinata*, произрастающей в Иркутской области. Были изучены орган-специфическое распределение и динамика накопления в зависимости от фазы вегетации для 8 соединений. Максимальное количество гликозидов флавоноидов накапливается в цветках и листьях, а агликонов флавоноидов – в стеблях. Максимальное количество флавоноидов в надземных органах наблюдается в период цветения, а фенолэтаноида актеозида – в период плодоношения.

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

ACCUMULATION DYNAMICS OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE ABOVEGROUND ORGANS OF *EUPHRASIA PECTINATA* TEN., GROWING IN THE CENTRAL SIBERIA

V.M. Mirovich¹, A.L. Sambarov¹, L.V. Dudareva², E.G. Rudikovskaya², D.N. Olennikov³,
I.A. Murashkina¹

¹ Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia

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

³ Institute of General and Experimental Biology RAS, Ulan-Ude, Russia

A plant of the *Euphrasia* L. genus is promising to be introduced into medical practice and being used in traditional medicine for eye, gastrointestinal tract, upper respiratory tract disease treatment. *Euphrasia pectinata* Ten is widespread and growing abundantly in the Central Siberia. Study of the composition and quantitative content of phenolic compounds of *Euphrasia pectinata* Ten. growing in Irkutsk Region was studied by HPLC method. Organ-specific distribution and dynamics of accumulation depending on the phase of vegetation of 8 compounds (3-O-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid), hyperozide, acteozide, cynaroside, diosmetin-7-O-β-D-glucuronide, dihydroquercetin, luteolin, quercetin) were studied. The maximum of flavonoid glycosides is accumulated in flowers and leaves, and the maximum of flavonoid aglycone is accumulated in stems. The maximum quantity of flavonoids in aboveground organs is observed in the flowering period, and maximum of phenylethanoid acteozide is observed in the fruiting period. Thus, as a medicinal plant, the materials can be recommended for harvesting of the aboveground organs *E. pectinata* during the flowering period.

Key words: *Euphrasia pectinata*, HPLC method, flavonoids, phenol carbonic acids, acteozide

Растущая потребность медицины в фитопрепаратах стимулирует расширение и обновление их ассортимента за счет растений народной медицины. Перспективными для введения в медицинскую практику являются растения рода *Euphrasia* L., которые широко применяются в народной медицине при заболеваниях глаз, желудочно-кишечного тракта, верхних дыхательных путей [3]. Некоторые представители рода *Euphrasia* L. в ряде европейских стран являются фармакопейными видами.

В Центральной Сибири широко распространена и имеет достаточную сырьевую базу очанка гребенчатая (*Euphrasia pectinata* Ten.). В народной медицине настой и спиртовые извлечения из надземных органов *E. pectinata* применяются при глазных заболеваниях, гастроэнтеритах, нарушениях памяти, для снижения кровяного давления и как противовоспалительное средство [2]. По сведениям литературных источников, химический состав *E. pectinata* сибирского региона изучен недостаточно, кроме того, растения рода *Euphrasia* L. представляют собой географо-морфологические расы, и их экологическая

пластичность требует изучения видов из разных точек ареала [1].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение накопления и распределения фенольных соединений в надземных органах *E. pectinata*, произрастающей в Центральной Сибири.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили надземные органы *E. pectinata*, собранные в период цветения в Иркутской области, в окрестностях с. Ново-Грудино. 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 ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Для проведения анализа извлечения из *E. pectinata* получали по методике: сырье измельчали до частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм; около 1 г сырья (точная навеска) помещали в колбу

на 100 мл, добавляли 40 мл 60%-го этилового спирта, взвешивали колбу на тарных весах. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 часа. После охлаждения колбы ее массу доводили до первоначальной 60%-м этиловым спиртом. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

Далее 100 мкл извлечения помещали в делительную воронку и очищали от липофильных соединений хлороформом – трижды по 10 мл. Затем извлечение помещали в круглодонную колбу и отгоняли остатки хлороформа на ротаторном испарителе под вакуумом. К извлечению добавляли 5 мл очищенной воды. Из водной вытяжки дважды проводили экстракцию этилацетатом по 10 мл, затем вытяжку подкисляли кислотой хлористоводородной до pH 3,0 и еще 1 раз проводили экстракцию этилацетатом. Этилацетатные извлечения объединяли и отгоняли растворитель под вакуумом. Сухой остаток растворяли в 1 мл метилового спирта.

Параллельно готовили серию 0,1%-х растворов стандартных образцов в метиловом спирте: кверцетина, лютеолина, цинарозида, гиперозида, 3-О-кофеилхинной кислоты, диосметин-7-О-β-D-глюкурозида, дигидрокверцетина, актеозида.

Изучение состава фенольных соединений проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы «Shimadzu», модель LC-10AT (Япония). Для разделения была использована колонка фирмы PerfectBond (4,6 × 250 мм; 5 мкм). В качестве подвижной фазы использовали ацетонитрил – 0,01%-я трифторуксусная кислота, градиент от 20 до 70 % ацетонитрила. Анализ проводили при 25 °С. Скорость подачи элюента – 0,5 мл/мин, продолжительность анализа – 40 мин. Детектирование проводилось с помощью УФ-детектора «Shimadzu», модель SPD 10A, при длинах волн 280 и 360 нм.

Идентификацию целевых компонентов проводили путем сопоставления их времен удерживания с

временами удерживания стандартных соединений, а также по спектральным соотношениям. Количественное содержание в исследуемых образцах рассчитывали по площади пиков исследуемых веществ и стандартов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в ходе исследования данные представлены в таблице 1. Результаты показали, что все надземные органы *E. pectinata* накапливают 3-О-кофеилхинную кислоту, наибольшее ее количество содержится в листьях – 3,99 мг/г, стебли содержат 3-О-кофеилхинную кислоту в небольшом количестве – 0,15 мг/г. Содержание фенолэтаноида актеозида отмечается во всех надземных органах, наибольшее накопление этого соединения происходит в листьях и цветках. Флавоноловый гликозид гиперозид накапливают все надземные органы *E. pectinata* в количестве от 0,14 до 0,22 мг/г. Изучение накопления флавоновых гликозидов цинарозида и диосметин-7-β-D-глюкурозида показало, что больше всего этих соединений накапливают листья и цветки. В стеблях цинарозида содержится в 6,2 раза меньше, а диосметин-7-β-D-глюкурозида – в 1,6 раза меньше, чем в цветках. Агликоны флавоноидов – дигидрокверцетин, лютеолин и кверцетин – накапливают все надземные органы *E. pectinata*, максимальное количество агликонов флавоноидов отмечается в стеблях (11,87 мг/г).

В ходе изучения зависимости динамики накопления фенольных соединений по фазам вегетации в надземных органах (смесь листьев, цветков и стеблей) *E. pectinata*, произрастающей в Иркутской области, установлено, что максимальное содержание 3-О-кофеилхинной кислоты отмечается в период цветения (табл. 2). Содержание фенолэтаноида актеозида в фазы вегетации и цветения существенно не различается, в период плодоношения отмечается увеличение количества актеозида на 23 %, по сравнению с периодом цветения растения.

Таблица 1
Содержание фенольных соединений в надземных органах *E. pectinata* в мг/г (в фазу цветения)

| Соединение | Листья | Цветки | Стебли |
|------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| 3-О-кофеилхинная кислота | 3,99 ± 0,12 | 2,66 ± 0,08 | 0,15 ± 0,01 |
| Гиперозид | 0,18 ± 0,01 | 0,22 ± 0,01 | 0,14 ± 0,03 |
| Актеозид | 7,75 ± 0,07 | 8,23 ± 0,05 | 4,63 ± 0,08 |
| Цинарозид | 18,33 ± 0,72 | 28,32 ± 1,54 | 4,56 ± 0,15 |
| Диосметин-7-β-D-глюкуронозид | 2,55 ± 0,11 | 3,05 ± 0,16 | 1,93 ± 0,08 |
| Дигидрокверцетин | 2,31 ± 0,19 | 8,36 ± 0,09 | 10,89 ± 0,73 |
| Лютеолин | 0,07 ± 0,003 | 0,13 ± 0,005 | 0,23 ± 0,01 |
| Кверцетин | 0,22 ± 0,01 | 0,12 ± 0,005 | 0,75 ± 0,01 |
| Сумма флавоноидов | 23,66 | 40,20 | 18,50 |
| Гликозиды флавонолов | 0,18 | 0,22 | 0,14 |
| Гликозиды флавонов | 20,88 | 31,37 | 6,49 |
| Агликоны | 2,60 | 8,61 | 11,87 |

Содержание фенольных соединений в надземных органах *E. pectinata* по фазам вегетации в мг/г

| Соединение | Фаза вегетации | | |
|------------------------------|----------------|--------------|--------------|
| | Вегетация | Цветение | Плодоношение |
| 3-О-кофеилхинная кислота | 0,60 ± 0,03 | 1,57 ± 0,06 | 0,77 ± 0,08 |
| Гиперозид | 0,10 ± 0,008 | 0,16 ± 0,01 | 0,08 ± 0,006 |
| Актеозид | 6,64 ± 0,17 | 6,74 ± 0,14 | 8,34 ± 0,11 |
| Цинарозид | 2,40 ± 0,11 | 13,36 ± 0,56 | 5,86 ± 0,32 |
| Диосметин-7-β-D-глюкуронозид | 0,50 ± 0,02 | 2,78 ± 0,10 | 1,12 ± 0,04 |
| Дигидрокверцетин | 2,82 ± 0,12 | 10,50 ± 0,35 | 3,48 ± 0,15 |
| Лютеолин | 0,03 ± 0,001 | 0,10 ± 0,004 | 0,05 ± 0,003 |
| Кверцетин | – | 0,25 ± 0,01 | – |
| Сумма флавоноидов | 5,85 | 27,15 | 10,59 |
| Гликозиды флавонолов | 0,10 | 0,16 | 0,08 |
| Гликозиды флавонов | 2,90 | 16,14 | 6,98 |
| Агликоны | 2,85 | 10,85 | 3,53 |

Содержание флавонолового гликозида гиперозиды отмечается во все фазы вегетации и характеризуется невысоким содержанием. В фазу плодоношения его становится меньше в 2 раза, чем в период цветения.

Количество флавоновых гликозидов цинарозида и диосметин-7-β-D-глюкуронозида к фазе цветения увеличивается в 5,6 раза, а затем снижается в период плодоношения в среднем в 2,5 раза (табл. 2).

Накопление агликонов флавоноидов дигидрокверцетина и лютеолина достигает максимума в период цветения, содержание кверцетина отмечается только в фазу цветения.

Сумма флавоноидов достигает максимального содержания в фазу цветения *E. pectinata* и составляет 27,15 мг/г.

Таким образом, изучено орган-специфическое распределение и влияние фазы вегетации на накопление фенольных соединений в надземных органах *E. pectinata*. Максимальное количество гликозидов флавоноидов накапливается в цветках и листьях, а агликонов флавоноидов – в стеблях. Максимальное количество флавоноидов в надземных органах наблюдается в период цветения, а фенолэтаноида актеозиды – в период плодоношения. В качестве лекарственного растительного сырья может быть

рекомендована трава *E. pectinata*, заготовленная в период цветения.

**ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES**

1. Гусарова Г.Л. К вопросу о сезонном диморфизме у очанок (*Euphrasia*, *Scrophulariaceae*) // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 1991. – Сер. 3, Вып. 2. – С. 37–44.

Gusarova GL (1991). On the question of seasonal dimorphism of eyebright (*Euphrasia*, *Scrophulariaceae*) [K voprosu o sezonnom dimorfizme u ochanok (*Euphrasia*, *Scrophulariaceae*)], *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta*, 3 (2), 37-44.

2. Лавренова В.Г., Лавренов В.К. Полная энциклопедия лекарственных растений. – М.: АСТ-Сталкер, 2008. – 448 с.

Lavrenova VG, Lavrenov VK (2008). Complete encyclopedia of medicinal plants [*Polnaya entsiklopediya lekarstvennykh rasteniy*], 448.

3. Телятьев В.В. Полезные растения Центральной Сибири. – Иркутск: Восточно-Сибирское кн. изд-во, 1987. – 400 с.

Telyatyev VV (1987). Useful plants of the Central Siberia [*Poleznye rasteniya Tsentral'noy Sibiri*], 400.

**Сведения об авторах
Information about the author**

Мирович Вера Михайловна – доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 10; тел.: 8 (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, Karl Marx str., 10; tel.: +7 (3952) 24-34-47; e-mail: mirko02@yandex.ru)

Самбаров Андрей Леонидович – аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: asambarov@mail.ru)

Sambarov Andrey Leonidovich – Postgraduate of the Department of Pharmacognosy and Botany of Irkutsk State Medical University (e-mail: asambarov@mail.ru)

Дударева Любовь Виссарионовна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией физико-химических методов исследования ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132; тел.: 8 (3952) 42-58-92; e-mail: laser@sifibr.irk.ru)

Dudareva Lyubov Vissarionovna – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Physicochemical Analysis of Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (664033, Irkutsk, Lermontov str., 132; tel.: +7 (3952) 42-58-92; e-mail: laser@sifibr.irk.ru)

Рудиковская Елена Георгиевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиолого-биохимической адаптации растений ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН (e-mail: rudal69@mail.ru)

Rudikovskaya Elena Georgievna – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Physiological and Biochemical Adaptation of Plants of Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (e-mail: rudal69@mail.ru)

Оленников Даниил Николаевич – доктор фармацевтических наук, старший научный сотрудник лаборатории химико-фармацевтических исследований ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: 8 (3012) 43-47-43; e-mail: olenikovdn@mail.ru)

Olennikov Daniil Nikolaevich – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Chemical and Pharmaceutical Research of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (670047, Ulan-Ude, Sakhyanova str., 6; tel.: +7 (3012) 43-47-43; e-mail: olennikovdn@mail.ru)

Мурашкина Ирина Анатольевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры технологии лекарственных форм ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: murashkin.leha@mail.ru)

Murashkina Irina Anatolyevna – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Technology of Medicinal Forms of Irkutsk State Medical University (e-mail: murashkin.leha@mail.ru)