

УДК 615.322:582.685.4:581.192

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2025.3.25 EDN: OQCEPM

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЛИСТЬЕВ СВИДИНЫ ЮЖНОЙ

© Гюльбякова Х.Н., Федотова В.В.

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, Россия, 357532, Пятигорск, пр. Калинина, 11**Резюме***Цель.** Изучить фенольные соединения листьев свидины южной.**Методика.** Листья свидины южной заготавливались в период цветения в местах естественного обитания в окрестностях г. Пятигорска Ставропольского края в июне 2022-2024 гг. Для диагностики в сырье веществ фенольного характера были использованы методы тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Анализ проводился на основании требований Государственной Фармакопеи XV издания.**Результаты.** Установлено присутствие в листьях свидины южной следующих веществ фенольной структуры: фенолкарбоновые кислоты (галловая, кофейная, хлорогеновая, феруловая), флавоноиды (рутин, лютеолин-7-О-гликозид), кумарины (умбеллиферон).**Заключение.** Основываясь на полученных данных, можно сделать заключение о том, что листья свидины южной представляют собой перспективный объект для дальнейших исследований с целью разработки фитопрепаратов, обладающих антиоксидантным действием.**Ключевые слова:** свидина южная, листья, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, кумарины, высокоэффективная жидкостная хроматография**CHROMATOGRAPHIC STUDY OF PHENOLIC COMPOUNDS OF LEAVES OF CORNUS AUSTRALIS
Gulbjakova Ch.N., Fedotova V.V.***Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a Branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalina, 357532, Pyatigorsk, Russia**Abstract***Objective.** To study the phenolic compounds of the leaves of southern dogwood.**Methods.** The leaves of the southern dogwood were harvested during the flowering period in natural habitats in the vicinity of Pyatigorsk, Stavropol Krai, in June 2022-2024. Thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography were used to diagnose phenolic substances in the raw materials. The analysis was carried out based on the requirements of the State Pharmacopoeia, XV edition.**Results.** The presence of the following phenolic substances in the leaves of the southern dogwood was established: phenolic carboxylic acids (gallic, caffeic, chlorogenic, ferulic), flavonoids (rutin, luteolin-7-O-glycoside), coumarins (umbelliferone).**Conclusion.** Based on the data obtained, it can be concluded that the leaves of the southern dogwood represent a promising object for further research in order to develop herbal preparations with antioxidant action.**Keywords:** Cornus australis, leaves, phenolic acids, flavonoids, coumarins, high-performance liquid chromatography**Введение**

Повреждение клеточных мембран, представляющих собой двойной липидный слой, лежит в основе множества патологических процессов в организме. Одним из главных факторов, вызывающих такое повреждение, является свободнорадикальное окисление липидов

(пероксидация липидов), приводящее к перекисному окислению липидов (ПОЛ) [5]. Это способствует образованию перекисей липидов, альдегидов и других токсичных продуктов, влияющих на клеточные структуры и нарушающих их функции. В результате могут развиваться различные заболевания, от сердечно-сосудистых патологий и нейродегенеративных расстройств до онкологических заболеваний и воспалительных процессов. Поэтому поиск эффективных антиоксидантов, способных подавлять ПОЛ, является крайне важной задачей современной медицины [10].

Свидина южная (*Cornus australis* C.A. Mey.) – перспективное растение для разработки таких антиоксидантных препаратов [4]. Этот кустарник или небольшое дерево семейства кизиловых (Cornaceae) распространен на Кавказе, в Крыму, южных регионах европейской части России [1], в Турции и в некоторых регионах Европы [9]. Его высота достигает до 4 метров. Интерес к свидине южной обусловлен наличием в её составе биологически активных веществ, обладающих выраженными антиоксидантными свойствами. Литературные данные показали, что листья свидины южной содержат значительные количества розмариновой кислоты (2,86%), кофейной кислоты (2,55%) и флавоноидов (1,37%) [6].

Кроме того, анализ древесины свидины южной методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) выявил наличие холоцеллюлозы ($72,27 \pm 0,27\%$), α -целлюлозы ($43,24 \pm 0,17\%$), лигнина ($16,32 \pm 0,09\%$), а также различных сахаров: сахарозы (25,53%), фруктозы (17,10%), глюкозы (16,63%), галактозы (1,21%) и арабинозы (0,61%) [7].

Настои и отвары из листьев и цветков растения находят применение в народной медицине некоторых стран как мощное антиоксидантное средство [8].

Для обоснования перспективы фармацевтического использования растительного сырья свидины южной представляет интерес провести изучение фенольных соединений растения, которые, предположительно, вносят существенный вклад в антиоксидантную активность растения.

Методика

Объект исследования – листья свидины южной, заготовленные во время цветения в окрестностях г. Пятигорска Ставропольского края в июне 2022-2024 гг.

Предварительный скрининг фенольных соединений водно-спиртовых извлечений изучаемого сырья осуществляли методом ТСХ [2] на пластинках «Sorbfil» марки ПТСХ-АФ-А-УФ, Россия, в системах растворителей: бутанол-кислота уксусная-вода (БУВ) в пропорциях 4:1:2 и кислота уксусная 15% [3]. Идентификацию фенольных соединений проводили в УФ-свете (365 нм) по специфической флюоресценции фенольных соединений до и после обработки хроматограмм в парах аммиака. Дальнейшее изучение качественного и количественного состава фенольных соединений проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ [2] с использованием хроматографа Dionex Ultimate 3000, снабженного УФ-детектором VWD-3000 (Thermo Scientific, США) и хроматографической колонкой Luna C18 размером 250×4,6 мм, заполненной октадецилсиликагелем с зернением 5мкм (Phenomenex, США). В работе использовали стандартные образцы (СО) кислоты галловой, хлорогеновой, кофейной, феруловой, розмариновой, коричной кислот, а также рутина, лютеолина, лютеолин-7-О-гликозида, гиперозида, умбеллиферона (Sigma-Aldrich, США) с содержанием действующих веществ не менее 99,0%. Для ВЭЖХ-анализа использовали извлечения спиртом этиловым 70%-м из листьев свидины южной (1:100), полученные в режиме двукратной экстракции. Далее 2,0 мл извлечения помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили до метки водой очищенной, перемешивали и центрифугировали при 8000 мин⁻¹ в течении 3 минут. Хроматографировали 20 мкл полученного раствора в градиентном режиме при скорости потока 1 мл/мин. Температура образца составляла 200°C, температура колонки – 300°C. Подвижная фаза А – 1% водный раствор муравьиной кислоты, подвижная фаза В – ацетонитрил. Детектирование осуществляли спектрофотометрически при 254 нм. Программа градиента представлена в табл. 1. В этих же условиях проводили хроматографическое определение растворов стандартных образцов (СО) галловой, хлорогеновой, кофейной, феруловой, розмариновой, коричной кислот, а также лютеолина, лютеолин-7-О-гликозида, умбеллиферона.

Исходные растворы СО готовили следующим образом: «Около 10 мг СО (точные навески) раздельно помещали в мерные колбы вместимостью 25 мл и растворяли при перемешивании в 15-20 мл спирта этилового 70%, после чего объем раствора доводили до метки тем же растворителем».

Таблица 1. Программа градиента обращенно-фазовой ВЭЖХ

Время (мин.)	Подвижная фаза А, %	Подвижная фаза В, %
0-20	5 → 20	95 → 80
20-50	20	80
50-60	20 → 40	80 → 60
60-65	40 → 5	40 → 5

При установлении количественного содержания фенольных веществ в водном извлечении свидины южной проводили разведение исходных растворов СО и последующее их хроматографирование с получением площадей пиков, сопоставимых с площадями пиков на хроматограммах испытуемых растворов. Кроме того, проводили дальнейшее разведения с хроматографированием стандартных растворов с целью подтверждения линейной зависимости площади пиков СО от их концентрации. Идентификацию проводили по соответствию времени удерживания пиков на хроматограммах испытуемого и стандартного растворов. Расчет количественного содержания проводили по формуле:

$$X = \frac{S \times a_0 \times N \times 50 \times 25 \times P \times 100 \times 100}{S_0 \times a \times 25 \times 2 \times 2 \times 100 \times (100 - B)}$$

, где: S – площадь пика на хроматограмме испытуемого раствора, mAU×мин; S₀ – площадь пика вещества на хроматограмме раствора СО, mAU×мин; a – навеска листьев свидины южной, г; a₀ – навеска стандартного образца вещества, г; N – фактор разведения исходного раствора СО; P – содержание вещества в СО, %; B – содержание влаги, %.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты ТСХ-анализа (табл. 2) показали наличие зон адсорбции 8 веществ в системе растворителей БУВ (4:1:2), из которых было идентифицировано 6 (рутин, лютеолин-7-О-гликозид, галловая, феруловая, хлорогеновая и кофейная кислоты). При использовании в качестве элюента кислоты уксусной 15% проявились зоны адсорбции 7 веществ, из которых идентифицировано 5 соединений (рутин, лютеолин-7-О-гликозид, галловая, феруловая и кофейная кислоты).

Таблица 2. ТСХ-анализ листьев свидины южной на наличие фенольных соединений

№ п/п	Rf	Цвет зоны адсорбции		Результаты идентификации
		УФ-свет	УФ-свет и конц. NH ₃	
Система БУВ (4:1:2)				
1	0,37±0,02	светло-коричневый	лимонно-желтый	рутин
2	0,53±0,02	желто-зеленый	желто-зеленый	лютеолин-7-О-гликозид
3	0,58±0,02	коричневый	коричнево-голубой	кислота хлорогеновая
4	0,67±0,02	зеленый	желтый	кислота галловая
5	0,71±0,02	бурый	бурый	не идентифицирован
6	0,82±0,02	светло-голубой	светло-голубой	кислота кофейная
7	0,89±0,02	фиолетовый	фиолетовый	кислота феруловая
8	0,94±0,02	зеленый	лимонно-желтый	не идентифицирован
Кислота уксусная 15%				
1	0,05±0,02	светло-коричневый	лимонно-желтый	не идентифицирован
2	0,11±0,02	коричневый	коричневый	не идентифицирован
3	0,32±0,02	коричневый	желто-зеленый	лютеолин-7-О-гликозид
4	0,44±0,02	светло-фиолетовый	фиолетовый	кислота феруловая
5	0,49±0,02	светло-голубой	светло-голубой	кислота кофейная
6	0,55±0,02	светло-коричневый	лимонно-желтый	рутин
7	0,60±0,02	зеленый	желтый	кислота галловая

Следует отметить, что зона адсорбции галловой кислоты характеризовалась наибольшей интенсивностью свечения, что позволило сделать вывод о доминировании в исследуемом сырье данного соединения. ВЭЖХ-хроматограмма водно-спиртового извлечения листьев свидины южной представлена на рис. 1.

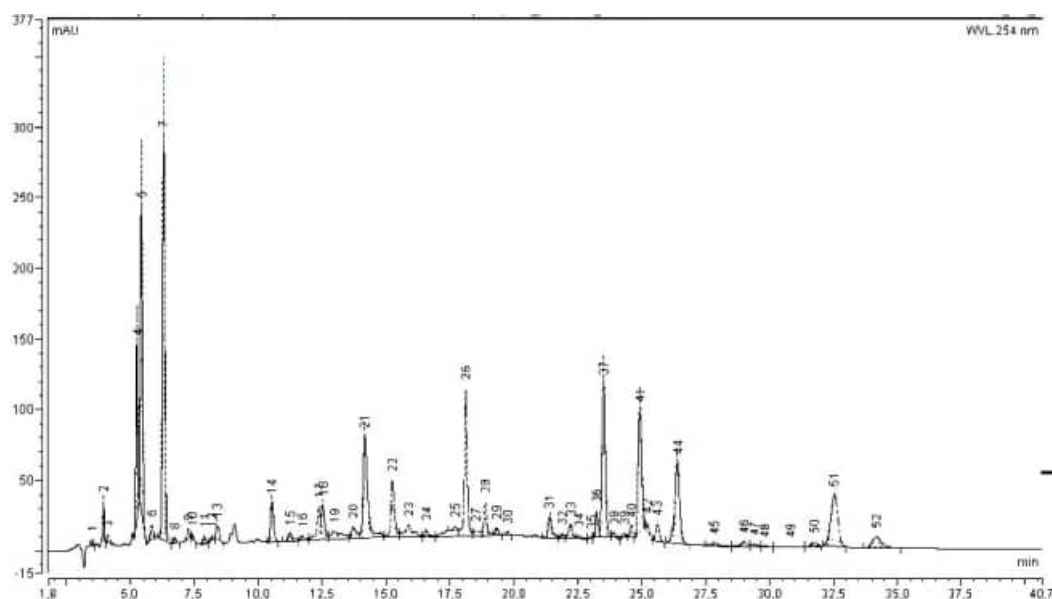


Рис. 1. Хроматограмма водного извлечения листьев свидины южной

Методом ВЭЖХ по соответствию временам удерживания пиков на хроматограммах стандартных образцов были идентифицированы следующие фенольные соединения: фенолкарбоновые кислоты (галловая, кофейная, хлорогеновая, феруловая), флавоноиды (рутин, лютеолин-7-О-гликозид) и кумарин умбеллиферон.

Результаты качественного и количественного определения фенольных соединений водного извлечения сырья представлены в табл. 3.

Таблица 3. Идентифицированные фенольные соединения листьев свидины южной

№ п/п	Вещество	Время удерживания, мин	Площадь пика на хроматограмме испытуемого раствора (S), mAU × мин	Навеска CO, г	Фактор разведения исходного раствора CO	Площадь пика на хроматограмме раствора CO (S ₀), mAU × мин	Содержание, %
1	Галловая кислота	6,287	28,723	0,0100	0,01	2,568	1,40
2	Хлорогеновая кислота	15,253	7,694	0,0112	0,01	1,694	0,62
3	Кофейная кислота	18,120	18,664	0,0125	0,0025	1,221	0,58
4	Рутин	24,513	19,766	0,0100	0,5	49,625	2,44
5	Умбеллиферон	24,927	13,414	0,0100	0,5	50,941	1,61
6	Феруловая кислота	25,527	6,257	0,0101	0,06	14,962	0,31
7	Лютеолин-7-О-гликозид	26,394	19,974	0,0120	0,04	15,870	0,74

Данные, приведенные в табл. 3, иллюстрируют, что доминантными фенольными соединениями в листьях свидины южной являются рутин (2,44%), умбеллиферон (1,61%) и кислота галловая (1,40%).

Заключение

В ходе представленного химического анализа листьев свидины южной, проведенного с использованием тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии, было обнаружено значительное количество биологически активных веществ фенольной природы. Эти соединения представляют собой обширный класс вторичных метаболитов растений, обладающих разнообразной фармакологической активностью, в том числе выраженными антиоксидантными свойствами. Среди идентифицированных фенольных соединений выявлены фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды и кумарины – группы веществ, известные своими мощными антиоксидантными и противовоспалительными действиями. Более детальное исследование показало, что преобладающими компонентами фенольного профиля листьев свидины южной являются рутин, галловая кислота и умбеллиферон.

Количественное определение концентраций этих доминантных соединений, которое может быть проведено с помощью ВЭЖХ с УФ-детектированием или другими подходящими методами, с разработкой методики стандартизации станет важным следующим шагом в исследовании. Кроме того, перспективным направлением является выявление и идентификация других, менее распространенных фенольных соединений в листьях свидины южной, что может существенно расширить понимание фармакологического потенциала этого растения.

Полученные результаты позволяют заключить, что листья свидины южной представляют собой ценный источник природных антиоксидантов и являются перспективным сырьем для разработки новых фитопрепаратов, обладающих антиоксидантным, противовоспалительным и, возможно, другими биологически значимыми свойствами. Дальнейшие исследования, включающие *in vitro* и *in vivo* эксперименты, необходимы для подтверждения биологической активности выявленных соединений и определения оптимальных методов извлечения и стандартизации фитопрепаратов на основе листьев свидины южной.

Литература (references)

1. Буданцев А.Л. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность: семейства Fabaceae – Apiaceae. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. – 601 с. [Budantsev A.L. *Rastitel'nye resursy Rossii: Dikorastushhie cvetkovye rastenija, ih komponentnyj sostav i biologicheskaja aktivnost': semejstva Fabaceae – Apiaceae*. Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity: families Fabaceae – Apiaceae. - St. Petersburg; Moscow: Partnership of scientific publications KMK, 2010. – 601 p. (in Russian)]
2. Государственная фармакопея 15 издание. Электронное издание. – 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> [Gosudarstvennaya farmakopeya 15 izdanie. State Pharmacopoeia 15th edition. Elektronnoe izdanie. – 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (in Russian)]
3. Гюльбякова Х.Н. Изучение флавоноидных соединений листьев вербены лимонной // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. – Пятигорск: Рекламно-информационное агентство на Кавминводах, 2021. – С. 156-160. [Gulbjakova Ch.N. *Razrabotka, issledovanie i marketing novoj farmacevticheskoj produkcii: sbornik nauchnyh trudov*. Development, research and marketing of new pharmaceutical products: collection of scientific papers. - Pyatigorsk: Advertising and information agency on Kavminvody, 2021. – P. 156-160. (in Russian)]
4. Рабаданов Г.А., Султанов Ю.М.А., Алхасов Б.А. Исследование липидов свидины южной // Возобновляемая энергетика: проблемы и перспективы. Актуальные проблемы освоения возобновляемых энергоресурсов: Материалы V Международной конференции, Махачкала, 23-26 октября 2017 года. Том 2. – Махачкала: ИП Овчинников Михаил Артурович (Типография Алеф), 2017. – С. 171-176. [Rabadanov G.A., Sultanov Yu.M.A., Alkhasov B.A. *Vozobnovljaemaja jenergetika: problemy i perspektivy. Aktual'nye problemy osvoenija vozobnovljaemyh jenergoresursov: Materialy V Mezhdunarodnoj konferencii, Mahachkala, 23–26 oktjabrja 2017 goda*. Renewable energy: problems and prospects. Actual problems of development of renewable energy resources: Proceedings of the V International Conference, Makhachkala, October 23-26, 2017. Volume 2. – Makhachkala: IP Ovchinnikov Mikhail Arturovich (Alef Printing House), 2017. – P. 171–176. (in Russian)]
5. Dai Z., Zhang W., Zhou L., Huang J. Probing Lipid Peroxidation in Ferroptosis: Emphasizing the Utilization of C11-BODIPY-Based Protocols // *Methods in molecular biology*. – 2023. – V.2712. – P. 61-72.
6. Forman V., Haladová M., Grančai D. Quantification of some secondary metabolites in selected Cornaceae species // *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae*. – 2015. – V.62 (Suppl 9). – P. 8-11.

7. Gençer A., Aksoy H. Yabani kızılıçık (*Cornus australis* L.) odunundan kâğıt üretimi ve kabuğun kâğıt özelliklerine etkisi // Artvin Coruh University Journal of Forestry Faculty. – 2017. – V.18, N2. – P. 186-191.
8. Jalali H., Nejad A.M., Ebadi A., Laey G. Ethnobotany and folk pharmaceutical properties of major trees or shrubs in northeast of Iran // Asian Journal of Chemistry. – 2009. – V.21, N7. – P. 5632-5638.
9. Keskin H, Aksoy H, Gençer A, Tümen I. Yabani Kızılıçık Odununun (*Cornus australis* L.) Bazı Kimyasal Özellikleri. El-Cezerî // Journal of Science and Engineering. – 2018. – V.5, N1. – P. 251-258.
10. Von Krusenstiern A.N., Robson R.N., Qian N., Qiu B., Hu F., Reznik E., Smith N., Zandkarimi F., Estes V.M., Dupont M., Hirschhorn T., Shchepinov M.S., Min W., Woerpel K.A., Stockwell B.R. Identification of essential sites of lipid peroxidation in ferroptosis // Nature Chemical Biology. – 2023. – V.19, N6. – P. 719-730.

Информация об авторах

Гюльбякова Христина Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: xristnik@yandex.ru

Федотова Виктория Владимировна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградская государственная медицинский университет» Минздрава России. E-mail: bergenya@yandex.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 14.03.2025

Принята к печати 25.09.2025