

УДК 615.322:581.19

ФЛАВОНОИДЫ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ ВИДОВ РОДА *BUPLEURUM* L.

© А.В. Мягчилов^{1,2*}, П.Г. Горовой², Л.И. Соколова¹

¹ Дальневосточный федеральный университет, о. Русский, п. Аякс, 10, Владивосток, 690950 (Россия), e-mail: ddfdf47@yandex.ru

² Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, пр. 100 лет Владивостоку, 159, Владивосток, 690922 (Россия)

Методами жидкостной экстракции из шести видов растений рода *Bupleurum* L., произрастающих на Дальнем Востоке России (Приморский край, Магаданская область), выделены соединения класса флавоноидов. Методом обращенно-фазовой жидкостной хроматографии идентифицированы 5 соединений: авикулярин, рутин, нарциссин, кверцетин, изорамнетин. Авикулярин впервые идентифицирован в растениях *B. atargense*, *B. longiradiatum*. Структура соединений (авикулярин, рутин, нарциссин), выделенных методом препаративной колоночной хроматографии на силикагеле в режиме градиентного элюирования смесью растворителей (четырёххлористого углерода и этилового спирта), доказана методами ЯМР-¹H, ¹³C, ¹H, ¹³C-НМВС-спектроскопии и масс-спектрометрии с ИЭР. Методом дифференциальной спектрофотометрии определена сумма флавоноидов в надземной части шести видов рода *Bupleurum* L., массовая доля которых варьирует от 0.58 до 2.92%. Максимальное содержание флавоноидов отмечено в *B. euphorbioides* – 2.92±0.58%, а минимальное – в *B. longiradiatum* (0.58±0.12%). Сравнительный анализ отдельных флавоноидов в видах рода *Bupleurum* L. выявил специфичность их накопления. Основным флавоноидом в надземной части *B. atargense*, *B. euphorbioides* является кверцетин – 1.14±0.23%, 0.92±0.18%, а в *B. triradiatum*, *B. komarovianum*, *B. scorzonifolium*, *B. longiradiatum* – рутин (0.47±0.09%, 0.18±0.04%, 0.32±0.08%, 0.13±0.03% соответственно).

Ключевые слова: флавоноиды, *Bupleurum* L., рутин, кверцетин, изорамнетин, авикулярин, нарциссин.

Введение

Растения видов рода *Bupleurum* L. являются перспективным природным лекарственным сырьем и широко используются при лечении различных заболеваний [1].

Bupleurum falcatum L. введена в фармакопею Кореи, Китая, Японии [2–4] и используется при лечении заболеваний печени [5]. В реестр лекарственных средств Российской Федерации включен вид *Bupleurum multinerve* L. как сырье для получения желчегонного препарата «Буплерин» [6–10]. Однако ресурсы дикорастущей *Bupleurum multinerve* L. в настоящее время не могут удовлетворить возрастающий спрос на сырье. В связи с этим актуален поиск в природной флоре и интродукции викарных видов *Bupleurum* L., необходимых для расширения сырьевой базы региона. Для использования этих растений в качестве лекарственного сырья необходимо их введение в Фармакопею РФ. Для этого необходимо изучить состав биологически активных соединений в данном случае флавоноидов, комплекс которых может использоваться для получения фитопрепаратов гепатопротекторного, желчегонного, сосудодукрепляющего и иммуностимулирующего действия.

Наиболее перспективными из дальневосточных видов рода *Bupleurum* L. являются растения *B. euphorbioides* Nakai., *B. triradiatum* Adam ex. Hoffm., *B. longiradiatum* Turcz., *B. scorzonifolium* Willd., *B. komarovianum* Lincz., *B. atargense* Gorovoi [11]. Растение *B. longiradiatum* Turcz. – наиболее распространенное, флавоноиды этого вида оказывают противовоспалительное действие при заболеваниях печени [12].

Мягчилов Алексей Викторович – кандидат биологических наук, доцент кафедры физической и аналитической химии, e-mail: ddfdf47@yandex.ru

Горовой Петр Григорьевич – доктор биологических наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией хемотаксономии растений, e-mail: petrgorovoy@gmail.com

Соколова Лариса Ивановна – кандидат химических наук, доцент, профессор кафедры физической и аналитической химии, e-mail: lisokolova@bk.ru

Цель работы – исследование состава флавоноидов в видах рода *Bupleurum* L. (*B. euphorbioides* Nakai., *B. triradiatum* Adam ex. Hoffm., *B. longiradiatum* Turcz., *B. scorzonifolium* Willd., *B. komarovianum* Lincz., *B. atargense* Gorovoi), произрастающих на Дальнем Востоке России (Приморский край, Магаданская область).

* Автор, с которым следует вести переписку.

Экспериментальная часть

Для выделения флавоноидов использовали надземные части (листья, стебли, соцветия) растений рода *Vupleurum* L., собранные на Дальнем Востоке России в фазу цветения (*V. euphorbioides* – Приморский край, Чугуевский район, 31 июля 2021 г.; *V. triradiatum* – Магаданская область, в окрестностях поселка Сокол, 9 августа 2021 г.; *V. longiradiatum* – Приморский край, Надеждинский район, в окрестностях поселка Раздольное, 2 сентября 2021 г.; *V. scorzonerifolium* – Приморский край, Октябрьский район, в окрестностях села Чернятино, 31 августа 2021 г.; *V. komarovianum* – Приморский край, Шкотовский район, в окрестностях поселка Шкотово, 4 сентября 2021 г.; *V. atargense* – Магаданская область, Ольский район, в окрестностях поселка Атарган, 20 августа 2021 г.). Сушка сырья проводилась при комнатной температуре. Высушенные растения измельчали до размеров частиц 1–2 см.

Количественное определение суммы флавоноидов и спектры поглощения в УФ-области измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV 1240 (Япония) в кварцевой кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C регистрировали в ДМСО- d_6 на спектрометре Bruker Avance 400 (США) при 400 МГц и 100 МГц соответственно. Масс-спектрометрический анализ проводили на приборе Bruker MaXis (США) при ионизации электрораспылением (ИЭР) с регистрацией отрицательных ионов. ОФ ВЭЖХ-анализ проводили на жидкостном хроматографе Agilent Technologies Series 1200 (США), детектор – диодная матрица, рабочая длина волны 360 нм. Колонка Supelco «Discovery» C18 (4.6×250 мм, 5 мкм), температура термостата колонки 30 °С. Разделение флавоноидов проводили в режиме градиентного элюирования: 0–10 мин 80% А + 20% В; 10–56 мин 20% А + 80% В; 56–60 мин 80% А + 20% В; 60–70 мин 80% А + 20% В (А – 1% CH_3COOH ; В – CH_3OH). Скорость потока элюента – 0.8 мл/мин. Объем вводимой пробы – 5 мкл.

Выделение флавоноидов из Vupleurum longiradiatum. Измельченные листья (30 г) *Vupleurum longiradiatum* экстрагировали 300 мл 70% (об./об.) этилового спирта на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 1.5 ч. Полученный экстракт упаривали на ротаторном испарителе до водного остатка, разбавляли дистиллированной водой и в делительной воронке последовательно обрабатывали четыреххлористым углеродом (для удаления хлорофилла), этилацетатом и *n*-бутанолом.

Бутанольную фракцию высушивали над безводным сульфатом натрия и отфильтровывали через бумажный фильтр (синяя лента). Затем упаривали досуха при пониженном давлении. К сухому остатку добавляли 20 мл 96% этилового спирта и смешивали с 20 г силикагеля марки (фракция 70–230 меш). Смесь экстракта и силикагеля высушивали при комнатной температуре и наносили на колонку (4×20 см) с силикагелем (70–230 меш). В качестве элюента использовали смесь CCl_4 : $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (содержание этанола изменялось от 0 до 100%). Собирали фракции по 10 мл. Каждую из собранных фракций анализировали методом ОФ ВЭЖХ, объединяли фракции, содержащие доминирующий флавоноид. Очистку выделенных соединений проводили перекристаллизацией из 20% этилового спирта.

В результате из *Vupleurum longiradiatum* выделили флавоноиды: авакулярин (1), рутин (2) и нарциссин (3). Идентификацию выделенных соединений проводили методами ЯМР- ^{13}C , ^1H , ^1H , ^{13}C -НМВС-спектроскопии и масс-спектрометрии с ИЭР.

Авикулярин (1). Масс-спектр ИЭР (m/z): 477,0947 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, что соответствует брутто-формуле $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$.

Спектр ЯМР- ^1H (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 7.54 (д, $J=2.2$ Гц, Н-2'), 7.49 (дд, $J=8.4$; 2.1 Гц, Н-6'), 6.91 (д, $J=8.4$ Гц, Н-5'), 6.40 (д, $J=2.0$ Гц, Н-8), 6.22 (д, $J=2.0$ Гц, Н-6), 5.48 (д, $J=1.1$ Гц, Н-1''), 4.34 (дд, $J=2.7$; 0.9 Гц, Н-5''), 3.52–3.94 (м, Н-2'', 3'', 4'').

Спектр ЯМР- ^{13}C (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 180.0 (С-4), 165.9 (С-7), 163.0 (С-5), 159.3 (С-2), 158.6 (С-9), 149.8 (С-4'), 146.3 (С-3'), 135.0 (С-3), 123.2 (С-1'), 123.0 (С-6'), 116.9 (С-2'), 116.5 (С-5'), 109.6 (С-1'''), 105.7 (С-10), 99.9 (С-6), 94.8 (С-8), 88.1 (С-4''), 83.3 (С-2''), 78.8 (С-3''), 62.6 (С-5'').

Рутин (2). Масс-спектр ИЭР (m/z): 609.5203 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, что соответствует брутто-формуле $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$.

Спектр ЯМР- ^1H (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 7.55 (д, $J=2.2$ Гц, Н-6'), 7.53 (Н-2', 6'), 6.83 (д, $J=8.4$ Гц, Н-5'), 6.38 (д, $J=2.0$ Гц, Н-8), 6.19 (д, $J=2.0$ Гц, Н-6), 5.33 (д, $J=7.5$ Гц, Н-1''), 4.83 (д, $J=1.0$ Гц, Н-1'''), 3.69 (д, $J=10.3$ Гц, Н-6''), 3.21–3.31 (м, Н-2'', 3'', 5'', 2''', 3''', 5'''), 3.07 (Н-4'', 4'''), 0.98 (д, $J=6.2$ Гц, Н-6''').

Спектр ЯМР- ^{13}C (ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 179.2 (С-4), 165.9 (С-7), 163.0 (С-5), 158.4 (С-2), 158.3 (С-9), 150.2 (С-4'), 146.6 (С-3'), 135.1 (С-3), 123.4 (С-6'), 123.0 (С-1'), 118.1 (С-5'), 117.0 (С-2'), 105.8 (С-10), 102.8 (С-1''),

102.6 (C-1"), 100.5 (C-6), 95.4 (C-8), 78.3 (C-3"), 77.7 (C-5"), 75.9 (C-2"), 73.7 (C-4"), 72.2 (C-2", 3"), 72.0 (C-4"), 70.1 (C-5"), 68.8 (C-6"), 19.6 (C-6").

Нарциссин (3). Масс-спектр ИЭР (m/z): 624.0245 [M-H]⁻, что соответствует брутто-формуле C₂₈H₃₂O₁₆.

Спектр ЯМР-¹H (ДМСО-d⁶, δ, м.д.): 8.06 (д, J=8.0 Гц, H-5'), 7.95 (д, J=2.0 Гц, H-2'), 7.61 (дд, J=8.0; 2.0 Гц, H-6'), 6.41 (д, J=2.0 Гц, H-8), 6.21 (д, J=2.0 Гц, H-6), 5.24 (д, J=7.2 Гц, H-1"), 4.53 (д, J=1.0 Гц, H-1"), 3.95 (с, -OCH₃), 3.78 (д, J=3.5 Гц, H-6"), 3.39–3.79 (м, H-2", 3", 5", 2", 3", 5"), 3.25 (H-4", 4"), 1.11 (д, J=6.0 Гц, H-6").

Спектр ЯМР-¹³C (ДМСО-d⁶, δ, м.д.): 179.0 (C-4), 165.9 (C-7), 162.7 (C-5), 158.6 (C-9), 158.2 (C-2), 150.7 (C-4'), 148.1 (C-3'), 135.1 (C-3), 123.8 (C-6'), 122.8 (C-1'), 115.9 (C-5'), 114.4 (C-2'), 105.5 (C-10), 104.5 (C-1"), 102.4 (C-1"), 100.1 (C-6), 95.0 (C-8), 78.0 (C-3"), 77.4 (C-5"), 75.8 (C-2"), 73.8 (C-4"), 72.2 (C-2", 3"), 71.8 (C-4"), 69.8 (C-5"), 68.5 (C-6"), 56.7 (-OCH₃), 19.4 (C-6").

Выделение флавоноидов из растений рода Vupleurum L. для ВЭЖХ-анализа. Разделение и количественное содержание флавоноидов в экстрактах растений рода *Vupleurum* L., произрастающих на Дальнем Востоке России (Приморский край, Магаданская область), проводили методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ).

Навески по 4.00 г исследуемых растительных образцов экстрагировали первично 150 мл 70% раствора этилового спирта на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 1.5 ч; повторное экстрагирование проводили при тех же условиях. Объединенные водно-спиртовые экстракты фильтровали через бумажные фильтры (синяя лента), измеряли их объемы и анализировали методом ОФ ВЭЖХ.

Идентификацию флавоноидов на хроматограммах осуществляли, сопоставляя УФ-спектры и времена удерживания стандартных образцов флавоноидов с временами удерживания компонентов исследуемых экстрактов растений *Vupleurum* L., что позволило идентифицировать: авикулярин, нарциссин, рутин, кверцетин и изорамнетин. Методами математической статистики оценивали погрешность измерений (размах выборки n=5, P=0.95).

Методика количественного определения суммы флавоноидов в спиртовых экстрактах растений рода Vupleurum L. методом дифференциальной спектрофотометрии. Аликвоты экстрактов по 2 мл вносили в мерные колбы вместимостью 25 мл, добавили 2 мл 5%-ного спиртового раствора хлорида алюминия и доводили до метки 70%-ным этанолом. Раствор для сравнения готовился также, но без добавления хлорида алюминия.

Для построения градуировочного графика использовался стандартный раствор рутина с концентрацией 0.1 мг/мл. В мерные колбы вместимостью 25 мл вносили по 2 мл 5% спиртового раствора хлорида алюминия и следующие объемы стандартных растворов: 0.1; 0.5; 1.0; 2.0; 4.0; 7.5; 10 мл (объемы измеряли пипетками на 1 и 10 мл с погрешностью 0.01 и 0.1 мл). Содержимое колб доводили до метки 70% этанолом. Оптическую плотность измеряли через 30 мин при λ= 410 нм для рутина в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Методами математической статистики оценивали погрешность измерений (размах выборки n=5, P=0.95).

Результаты и их обсуждение

Методом препаративной колоночной хроматографии на силикагеле при элюировании смесью растворителей CCl₄ : C₂H₅OH, взятых в различных соотношениях из бутанольной фракции *Vupleurum longiradiatum*, выделили 3 флавоноида.

Флавоноид 1. В ИЭР масс-спектре высокого разрешения флавоноида в режиме регистрации отрицательных ионов присутствует пик иона [M-H]⁻ при $m/z=477.0947$, что соответствует брутто-формуле C₂₀H₁₈O₁₁.

В ЯМР ¹³C-спектре флавоноида присутствуют 20 сигналов. Наиболее слабopольный сигнал 179.9 м.д. принадлежит резонансу углерода (C-4) карбонильной группы. Сравнение химических сдвигов остальных сигналов слабopольной части спектра с литературными данными позволяет утверждать, что в качестве агликаона в флавоноиде выступает кверцетин [13, 14].

В ЯМР ¹³C-спектре в области 60–90 м.д. присутствуют 4 сигнала (пятый сигнал при аномерного атома углерода наблюдается при 109.6 м.д.), принадлежащие к резонансу ядер атомов L-рамнозы. Сигналы C-4" (88.1 м.д.) и C-2" (83.2 м.д.) указывают на ее фуранозную форму [14].

Для установления конфигурации гликозидной связи измерили константу спин-спинового взаимодействия (КССВ) используя данные ЯМР-¹H спектра. Измеренная КССВ для аномерного протона при 5.48 м.д.

(H-1'') составила 1,1 Гц, что свидетельствует о наличии α -L-арабинофуранозидного фрагмента, который по данным ^1H , ^{13}C -НМВС расположен при С-3 в молекуле флавоноида.

На основании данных УФ-, ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии установлено, что выделенный флавоноид является кверцетин-3-О- α -L-арабинофуранозидом (авикулярином) (рис. 1).

Флавоноид 2. В масс-спектре, полученном при ИЭР, сигнал [M-H]⁻ с m/z 609.5203 отвечает брутто-формуле $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$.

В ЯМР- ^{13}C -спектре флавоноида присутствуют 27 сигналов. Наиболее слабopольный сигнал 179.2 м.д. принадлежит атому С-4 карбонильной группы. Сравнение химических сдвигов остальных сигналов слабopольной части спектра с литературными данными позволяет утверждать, что в качестве агликона в флавоноиде выступает кверцетин [13, 14].

В ЯМР ^{13}C -спектре в области 68–79 м.д. присутствуют 9 сигналов, характерных для пиранозной формы углеводного фрагмента. Сравнение химических сдвигов которых в сильнопольной части спектра с литературными данными позволяет утверждать, что углеводный фрагмент в молекуле флавоноида представлен D-глюкозой и L-рамнозой [14]. Наличие в спектре ^1H , ^{13}C -НМВС корреляции между протоном H-6'' (D-глюкозы) и С-1''' (L-рамнозы), свидетельствует, что углеводный фрагмент в молекуле флавоноида представляет D-глюкопиранозил-(1→6)-L-рамнопиранозид.

Для установления конфигурации гликозидной связи измерили константу спин-спиновой взаимодействия (КССВ), используя данные ЯМР- ^1H -спектра. Измеренная КССВ для аномерного протона при 4.83 м.д. (H-1''') составила 1.0 Гц, что свидетельствует о наличии D-глюкопиранозил-(1→6)- α -L-рамнопиранозидного фрагмента, который по данным эксперимента ^1H , ^{13}C -НМВС расположен при С-3 в молекуле флавоноида. Данные КССВ для аномерного протона при 5.33 м.д. (H-1'', J=7.5 Гц) свидетельствуют о наличии β -конфигурации гликозидной связи между молекулой флавоноида и углеводным фрагментом.

На основании данных УФ-, ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии установлено, что выделенный флавоноид является кверцетин-3-О- β -D-глюкопиранозил-(1→6)- α -L-рамнопиранозидом (рутином) (рис. 2).

Флавоноид 3. В ИЭР масс-спектре с регистрацией отрицательных ионов присутствует пик иона [M-H]⁻ при m/z=624.0245, что соответствует брутто-формуле $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$.

Сравнивая ЯМР-спектры данного соединения с флавоноидом 2, выявили большие сходства между ними, за исключением в ЯМР- ^1H спектре флавоноида сигнала метоксигруппы при 3.25 м.д., который по данным эксперимента ^1H , ^{13}C -НМВС, расположен при С-3', что указывает на агликон изорамнетин.

Согласно данным масс-спектрометрии, УФ- и ЯМР-спектроскопии, данное соединение определено как изорамнетин-3-О- β -D-глюкопиранозил-(1→6)- α -L-рамнопиранозид (нарциссин) [15, 16] (рис. 3).

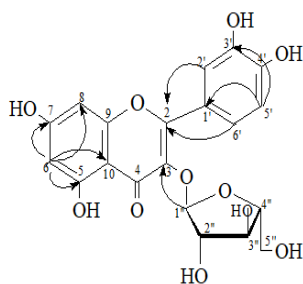


Рис. 1. Ключевые ^1H , ^{13}C -НМВС корреляции кверцетин-3-О- α -L-арабинофуранозида (авикулярина)

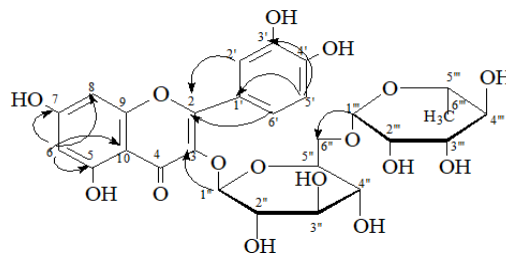


Рис. 2. Ключевые НМВС корреляции кверцетин-3-О- β -D-глюкопиранозил-(1→6)- α -L-рамнопиранозида (рутина)

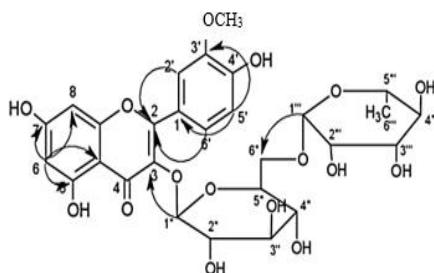


Рис. 3. Ключевые ^1H , ^{13}C -НМВС корреляции изорамнетин-3-О- β -D-глюкопиранозил-(1→6)- α -L-рамнопиранозида (нарциссин)

Количественное определение флавоноидов в экстрактах видов рода *Bupleurum* L. проводили методом ОФ ВЭЖХ с использованием стандартных образцов флавоноидов: изорамнетин, кверцетин, нарциссин, авикулярин, рутин (табл. 1).

Флавоноидный состав растений рода *Bupleurum* L. представлен агликонами (кверцетин и изорамнетин) и гликозидами (рутин, авикулярин и нарциссин).

Доминирующим флавоноидом в видах *B. euphoioides*, *B. atargense* является кверцетин. Наибольшее его содержание отмечено в *B. atargense* (1.14±0.23%), а минимальное – в *B. scorzonerifolium* (0.05±0.01%). В *B. komarovianum* и *B. longiradiatum* кверцетин не обнаружен. Отмечено, что изорамнетин содержится в надземной части *B. euphoioides*, *B. atargense*, *B. longiradiatum*, *B. scorzonerifolium*, в то время как в *B. komarovianum* данного флавоноида не обнаружено. *B. komarovianum* – единственный из исследованных нами видов, чей флавоноидный состав представлен исключительно гликозидами (рутин и нарциссин). Массовая доля рутина в *B. komarovianum* – 0.18±0.04%. Наибольшее содержание рутина (0.71±0.14%) обнаружено в *B. euphoioides*. Авикулярин представлен только в трех видах растений рода *Bupleurum* L. Наибольшее содержание авикулярина в *B. Longiradiatum* и составляет 0.06±0.02%. В остальных видах *B. atargense* и *B. scorzonerifolium* содержание авикулярина – 0.03±0.01% и 0.02±0.01% соответственно. Нарциссин, как и рутин, представлен во всех исследуемых нами видах. Наибольшее количество нарциссина (0.31±0.06%) отмечено в *B. euphoioides*.

Для определения суммарного содержания флавоноидов в спиртовых экстрактах надземных органов растений *Bupleurum* L. использовали метод дифференциальной спектрофотометрии [17–20], основанный на их способности образовывать окрашенный комплекс со спиртовым раствором хлорида алюминия, который дает основной максимум поглощения для экстрактов растений рода *Bupleurum* L. при λ=408 нм. Ближайший максимум поглощения при λ=410 нм отмечен для комплекса рутина, используемого нами в качестве стандартного образца. Использование в качестве раствора сравнения испытуемого экстракта без комплексообразователя позволяет исключить влияние окрашенных и других сопутствующих веществ (табл. 2).

Таблица 1. Массовая доля флавоноидов (%) в видах рода *Bupleurum* L.

Вид	Массовая доля флавоноидов (%) в пересчете на сухое сырье				
	Рутин	Авикулярин	Нарциссин	Кверцетин	Изорамнетин
<i>B. euphoioides</i>	0.71±0.14	–	0.31±0.06	0.92±0.18	0.38±0.08
<i>B. triradiatum</i>	0.47±0.09	–	0.09±0.02	0.25±0.05	0.03±0.01
<i>B. atargense</i>	0.21±0.04	0.03±0.01	0.08±0.02	1.14±0.23	0.14±0.03
<i>B. komarovianum</i>	0.18±0.04	–	0.07±0.02	–	–
<i>B. scorzonerifolium</i>	0.32±0.08	0.02±0.01	0.07±0.02	0.05±0.01	0.04±0.01
<i>B. longiradiatum</i>	0.13±0.03	0.06±0.02	0.08±0.02	–	0.12±0.03

Массовая доля флавоноидов в надземной части растений рода *Bupleurum* L. варьируется от 0.58 до 2.92%. Наибольшее количество флавоноидов содержится в виде *B. euphoioides* – 2.92±0.58%, а минимальное – в *B. longiradiatum* (0.58±0.12%). Содержание флавоноидов *B. komarovianum* и *B. scorzonerifolium* составляет 0.88±0.17 и 0.91±0.18% соответственно.

Таким образом, разнообразный состав и высокое содержание доминирующих флавоноидов отмечается у вида *B. euphoioides*, который в будущем может использоваться как сырье для создания желчегонных и противовоспалительных препаратов.

Выводы

1. Методами жидкостной экстракции и препаративной колоночной хроматографии из надземной части растения *Bupleurum longiradiatum* выделено 3 флавоноида: авикулярин, рутин, нарциссин. Структура флавоноидов доказана методами ЯМР-¹H, ¹³C, ¹H,¹³C-НМВС-спектроскопии и масс-спектрометрии.

2. Методом ОФ ВЭЖХ в дальневосточных видах рода *Bupleurum* L. идентифицировано 5 флавоноидов – авикулярин, рутин, нарциссин, кверцетин и изорамнетин.

Таблица 2. Массовая доля (%) флавоноидов в видах рода *Bupleurum* L.

Вид	Массовая доля флавоноидов (%) в пересчете на сухое сырье
<i>B. euphoioides</i>	2.92±0.58
<i>B. triradiatum</i>	1.21±0.24
<i>B. atargense</i>	1.91±0.38
<i>B. komarovianum</i>	0.88±0.17
<i>B. scorzonerifolium</i>	0.91±0.18
<i>B. longiradiatum</i>	0.58±0.12

3. Методом дифференциальной спектрофотометрии определена сумма флавоноидов в надземной части шести видов рода *Bupleurum* L., массовая доля которых варьирует от 0.58 до 2.92%. Наибольшее количество флавоноидов содержится в виде *B. euphoioides* – $2.92 \pm 0.58\%$, а минимальное – в *B. longiradiatum* ($0.58 \pm 0.12\%$).

4. Сравнительный анализ отдельных флавоноидов в видах рода *Bupleurum* L. выявил специфичность их накопления. Основным флавоноидом в надземной части *B. atargense*, *B. euphoioides* является кверцетин – $1.14 \pm 0.23\%$, $0.92 \pm 0.18\%$, а в *B. triradiatum*, *B. komarovianum*, *B. scorzoniferifolium*, *B. longiradiatum* – рутин ($0.47 \pm 0.09\%$, $0.18 \pm 0.04\%$, $0.32 \pm 0.08\%$, $0.13 \pm 0.03\%$ соответственно).

Список литературы

1. Киселева А.В., Волхонская Т.А., Киселев В.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений Южной Сибири. Новосибирск, 1991. 136 с.
2. Guo J.X., Pan S.L., Li Y., Hong X.K. A study on the chemical constituents of volatile oils from 19 species of the genus *Bupleurum* in China // Acta Acad. Med. Shanghai. 1990. Vol. 17. Pp. 278–282.
3. Ashour M.L., Wink M. Genus *Bupleurum*: a review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action // Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2011. N63. Pp. 305–321. DOI: 10.1111/j.2042-7158.2010.01170.x.
4. Pan S.L. *Bupleurum* species: Scientific Evaluation and Clinical Applications. Boca Raton, 2006. 272 p. DOI: 10.1201/9781420009071.
5. Минаева В.Г. Лекарственные растения Сибири. Новосибирск, 1991. 427 с.
6. Минович В.М., Оленников Д.Н., Петухова С.А., Посохина А.А. Флавоноиды и фенилпропаноиды надземных органов володушки многожилковой (*Bupleurum multinerve* DC.) флоры Прибайкалья // Химия растительного сырья. 2020. №4. С. 121–128. DOI: 10.14258/jcrpm.2020047530.
7. А.с. №238096 (СССР). Лекарственный препарат / В.Г. Минаева, К.А. Соболевская, Т.А. Волхонская, М.П. Мальных, И.В. Ашихмина. – 1975.
8. А.с. №1328959 (СССР). Способ получения средства, обладающего Р-витаминной активностью / Т.А. Волхонская, А.С. Саратиков, Н.С. Лившиц, В.Ф. Израильсон. 1987.
9. А.с. №1534790 (СССР). Способ получения средства, обладающего Р-витаминной активностью / А.В. Киселева, А.С. Саратиков, Н.С. Лившиц, Н.А. Попова. 1990.
10. Тыхеев Ж.А., Тараскин В.В., Раднаева Л.Д. Полисахариды растений рода *Bupleurum* L. // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. 2019. Вып. 4. С. 15–23. DOI: 10.18101/2306-1995-2019-4-15-23.
11. Волкова С.А. Кариосистематика и карпология видов рода *Bupleurum* L. Дальнего Востока: дисс. ... канд. биол. наук. Владивосток, 1998. 138 с.
12. Гаммерман А.Ф., Гром И.И. Дикорастущие лекарственные растения СССР. М., 1986. 286 с.
13. Wawer I., Zielinska A. ^{13}C CP/MAS NMR studies of flavonoids // Magnetic resonance chemistry. 2001. N39. Pp. 374–380. DOI: 10.1002/mrc.871.
14. Andersen Q.M. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. Boca Raton, 2006. 1197 p. DOI: 10.1002/ange.200685399.
15. Нишанбаев С.З., Бобакулов Х.М., Бешко Н.Ю., Шамьянов И.Д., Абдулаев Н.Д. Флавоноиды надземной части *Alhagi canescens* флоры Узбекистана // Химия растительного сырья. 2017. №1. С. 77–83. DOI: 10.14258/jcrpm.2017011386.
16. Dehaghari Z.A., Asghari G., Dinani M.S. Isolation and Identification of Nicotiflorin and Narcissin from the Aerial Parts of *Peucedanum aucheri* Boiss. // Journal of Agricultural Science and Technology A. 2017. N7. Pp. 45–51. DOI: 10.17265/2161-6256/2017.01.007.
17. Тыхеев Ж.А., Тараскин В.В., Раднаева Л.Д. Количественное содержание суммы фенольных соединений в траве володушки двустебельной (*Bupleurum bicaule* Helm.) // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. 2021. №1. С. 40–51. DOI: 10.18101/2306-1995-2021-1-40-51.
18. Петухова С.А., Посохина А.А., Минович В.М. Разработка методики спектрофотометрического количественного определения суммы флавоноидов в володушки многожилковой траве // Аспирантский вестник Поволжья. 2020. №5–6. С. 170–174. DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.3.170-174.
19. Сагарадзе В.А., Сайбель О.Л., Джавахян М.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве володушки золотистой // Фармацевтический анализ и контроль качества лекарственных средств. 2016. Т. 2(12). С. 35–39.
20. Глушенко А.В., Георгиянц В.А., Бевз Н.Ю. Количественное определение флавоноидов и суммы полифенолов в надземной части володушки золотистой // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. 2014. №11(182). С. 172–176.

Поступила в редакцию 7 июля 2022 г.

После переработки 13 октября 2022 г.

Принята к публикации 25 ноября 2022 г.

Для цитирования: Мягчилов А.В., Горовой П.Г., Соколова Л.И. Флавоноиды дальневосточных видов рода *Bupleurum* L. // Химия растительного сырья. 2023. №2. С. 115–121. DOI: 10.14258/jcrpm.20230211645.

Myagchilov A.V.^{1,2*}, Gorovoy P.G.², Sokolova L.I.¹ FLAVONOIDS OF THE FAR EASTERN SPECIES OF THE GENUS *BUPLEURUM* L.

¹ Far Eastern Federal University, Russky Island, Ajax Bay, 10, Vladivostok, Russia, 690950,

e-mail: dfdfdf47@yandex.ru

² G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, pr. 100 let Vladivostoku, 159, Vladivostok, Russia, 690022

Compounds of the flavonoid class were isolated from six species of plants of the genus *Bupleurum* L. growing in the Russian Far East (Primorsky Krai, Magadan Region) by liquid extraction. Five compounds were identified by reversed-phase liquid chromatography: avicularin, rutin, narcissin, quercetin, isorhamnetin. Avicularin has been identified in the plants *B. atargense*, *B. longiradiatum* for the first time. The structure of compounds (avicularin, rutin, narcissin) isolated by preparative column chromatography on silica gel in the gradient elution mode with a mixture of solvents (carbon tetrachloride and ethyl alcohol) was proved by NMR-¹H, ¹³C, ¹H,¹³C-HMBC spectroscopy and mass spectrometry with ESI. The sum of flavonoids in the aerial part of six species of the genus *Bupleurum* L. was determined by differential spectrophotometry, the mass fraction of which varies from 0.58 to 2.92%. The highest content of flavonoids was found in *B. euphroides* – 2.92±0.58%, and the least – in *B. longiradiatum* (0.58±0.12%). Comparative analysis of individual flavonoids in species of the genus *Bupleurum* L. revealed the specificity of their accumulation. The main flavonoid in the aerial part of *B. atargense*, *B. euphroides* is quercetin – 1.14±0.23%, 0.92±0.18%, and in *B. triradiatum*, *B. komarovianum*, *B. scorzonifolium*, *B. longiradiatum* – rutin (0.47±0.09%, 0.18±0.04%, 0.32±0.08%, 0.13±0.03% accordingly).

Keywords: flavonoids, *Bupleurum* L., rutin, quercetin, isorhamnetin, avicularin, narcissin.

References

1. Kiseleva A.V., Volkhonskaya T.A., Kiselev V.Ye. *Biologicheski aktivnyye veshchestva lekarstvennykh rasteniy Yuzhnoy Sibiri*. [Biologically active substances of medicinal plants of South Siberia]. Novosibirsk, 1991, 136 p. (in Russ.).
2. Guo J.X., Pan S.L., Li Y., Hong X.K. *Acta Acad. Med. Shanghai*, 1990, vol. 17, pp. 278–282.
3. Ashour M.L., Wink M. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2011, no. 63, pp. 305–321. DOI: 10.1111/j.2042-7158.2010.01170.x.
4. Pan S.L. *Bupleurum species: Scientific Evaluation and Clinical Applications*. Boca Raton, 2006, 272 p. DOI: 10.1201/9781420009071.
5. Minayeva V.G. *Lekarstvennyye rasteniya Sibiri*. [Medicinal plants of Siberia]. Novosibirsk, 1991, 427 p. (in Russ.).
6. Mirovich V.M., Olennikov D.N., Petukhova S.A., Posokhina A.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 4, pp. 121–128. DOI: 10.14258/jcprm.2020047530. (in Russ.).
7. Patent 238096 (USSR). 1975. (in Russ.).
8. Patent 1328959 (USSR). 1987. (in Russ.).
9. Patent 1534790 (USSR). 1990. (in Russ.).
10. Tykheyev Zh.A., Taraskin V.V., Radnayeve L.D. *Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta. Meditsina i farmatsiya*, 2019, no. 4, pp. 15–23. DOI: 10.18101/2306-1995-2019-4-15-23. (in Russ.).
11. Volkova S.A. *Kariosistematika i karpologiya vidov roda Bupleurum L. Dal'nego Vostoka: diss. ... kand. biol. nauk*. [Karyosystematics and carpology of species of the genus *Bupleurum* L. Far East: diss. ... cand. biol. Sciences]. Vladivostok, 1998, 138 p. (in Russ.).
12. Gammerman A.F., Grom I.I. *Dikorastushchiye lekarstvennyye rasteniya SSSR*. [Wild medicinal plants of the USSR]. Moscow, 1986, 286 p. (in Russ.).
13. Wawer I., Zielinska A. *Magnetic resonance chemistry*, 2001, no. 39, pp. 374–380. DOI: 10.1002/mrc.871.
14. Andersen Q.M. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. Boca Raton, 2006, 1197 p. DOI: 10.1002/ange.200685399.
15. Nishanbayev C.Z., Bobakulov Kh.M., Beshko N.Yu., Sham'yanov I.D., Abdulayev N.D. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2017, no. 1, pp. 77–83. DOI: 10.14258/jcprm.2017011386. (in Russ.).
16. Dehaghari Z.A., Asghari G., Dinani M.S. *Journal of Agricultural Science and Technology A*, 2017, no. 7, pp. 45–51. DOI: 10.17265/2161-6256/2017.01.007.
17. Tykheyev Zh.A., Taraskin V.V., Radnayeve L.D. *Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta. Meditsina i farmatsiya*, 2021, no. 1, pp. 40–51. DOI: 10.18101/2306-1995-2021-1-40-51. (in Russ.).
18. Petukhova S.A., Posokhina A.A., Mirovich V.M. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*, 2020, no. 5–6, pp. 170–174. DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.3.170-174. (in Russ.).
19. Sagaradze V.A., Saybel' O.L., Dzhavakhyan M.A. *Farmatsevticheskiy analiz i kontrol' kachestva lekarstvennykh sredstv*, 2016, vol. 2(12), pp. 35–39. (in Russ.).
20. Glushchenko A.V., Georgiyants V.A., Bezv N.Yu. *Nauchnyye vedomosti. Seriya Meditsina. Farmatsiya*, 2014, no. 11(182), pp. 172–176. (in Russ.).

Received July 7, 2022

Revised October 13, 2022

Accepted November 25, 2022

For citing: Myagchilov A.V., Gorovoy P.G., Sokolova L.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2023, no. 2, pp. 115–121. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20230211645.

* Corresponding author.

