

УДК 547.586.5

СОДЕРЖАНИЕ КОФЕЙНОЙ, РОЗМАРИНОВОЙ И ХЛОРОГЕНОВОЙ КИСЛОТ В ЛИСТЬЯХ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА БУРАЧНИКОВЫЕ (*BORAGINACEAE*)

© Н.В. Петрова*, Н.А. Медведева, А.Л. Буданцев, А.Л. Шаварда

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. проф. Попова, 2,
Санкт-Петербург, 197376 (Россия), e-mail: nnotebook@rambler.ru

Методом хромато-масс-спектрометрии (в виде триметилсилильных производных) определено содержание розмариновой, кофейной и хлорогеновой кислот в листьях 14 видов семейства *Boraginaceae*, произрастающих в естественных условиях и в условиях интродукции. Показано, что кофейная кислота обнаруживается у всех исследованных представителей Бурачниковых. Для *Lycopsis arvensis* наличие розмариновой кислоты в листьях выявлено впервые. Для *Myosotis spasiiflora*, *Ompalodes verna*, *Pulmonaria obscura* и *Symphytum asperum* наличие хлорогеновой кислоты в листьях также выявлено впервые. Установлено, что у подавляющего числа исследованных видов содержание розмариновой и кофейной кислот увеличивается в период от цветения к плодоношению.

Ключевые слова: кофейная кислота, розмариновая кислота, хлорогеновая кислота, *Boraginaceae*.

Введение

Химический состав надземных органов представителей рода *Boraginaceae* Juss. недостаточно изучен как источник биологически активных веществ. Довольно подробно исследованы лишь некоторые виды, традиционно используемые в медицине, такие как *Borago officinalis* L., *Cynoglossum officinale* L., *Ehium vulgare* L., *Lithospermum erythrorhizon* Siebold et Zucc., *Symphytum officinale* L. и некоторые другие [1]. Известно, например, что в эксперименте метанольный экстракт надземной части *Ehium russicum* J. F. Gmel. обладает ранозаживляющими, антиоксидантными свойствами [2, 3], а экстракт надземной части *Brunnera macrophylla* (Adams) I. M. Johnst. в эксперименте проявляет антибактериальную и антифунгальную активность [4], но при этом практически отсутствуют сведения о химическом составе надземной части этих видов. Многие исследователи связывают антибактериальную и антиоксидантную активность растений с наличием в их экстрактах фенольных кислот [5], однако число видов из семейства Бурачниковых, которое подвергалось тестированию на содержание фенольных кислот, остается довольно узким. Из вторичных метаболитов с широким спектром биологической активности мы выбрали три наиболее распространенные фенольные кислоты: кофейная, розмариновая и хлорогеновая. Так, кофейная кислота является одним из

Петрова Наталья Валериевна – научный сотрудник лаборатории растительных ресурсов, кандидат биологических наук, e-mail: nnotebook@rambler.ru
Медведева Нина Анатольевна – старший научный сотрудник лаборатории растительных ресурсов, кандидат биологических наук, e-mail: namedvedeva@mail.ru
Буданцев Андрей Львович – старший научный сотрудник лаборатории растительных ресурсов, доктор биологических наук, e-mail: abudantsev@mail.ru
Шаварда Алексей Леонидович – старший научный сотрудник лаборатории аналитической фитохимии, кандидат биологических наук, e-mail: alexey@shavarda.com

промежуточных веществ синтеза лигнина, обладает противовоспалительными [6], бактериостатическими свойствами [7], хлорогеновая кислота рассматривается как регулятор ростовых процессов, как защитный фактор по отношению к некоторым микроорганизмам [8], обладает желчегонным эффектом [9], а у розмариновой кислоты выявлен широкий спектр лечебно-профилактических эффектов, но особенно выделяются её антиоксидантные свойства [10]. В литературе также имеются сведения о высокой биологической активности

* Автор, с которым следует вести переписку.

литоспермовой кислоты [11–13], обнаруженной в экстрактах многих видов семейства *Boraginaceae* [1], в синтезе которой участвуют названные выше кислоты [14]. Таким образом, цель данного исследования – провести скрининг некоторых видов семейства Бурачниковые на содержание кофейной, розмариновой и хлорогеновой кислот, а также проследить изменения динамики накопления этих фенольных кислот во время цветения и плодоношения.

Экспериментальная часть

В качестве объекта послужили листья 14 видов, относящихся к 10 родам семейства *Boraginaceae*, собранных в 2012–2014 г. как в местах их естественного произрастания (*Lappula sguarrosa* (Retz.) Dumort. – КНР, Синьцзянь-Уйгурский автономный округ, окр. г. Урумчи; *Lithospermum officinale* L. – Ленинградская обл., Кировский р-н, каньон реки Лава; *Lycopsis arvensis* L. – Костромская обл., Галичский район, окр. д. Артемьевское; *Myosotis palustris* (L.) L. – Костромская обл., Буйский район, окр. ст. Махрово; *M. spasiiflora* Porl. – Костромская обл., Галичский район, окр. д. Лаптево), так и в условиях интродукции в Ботаническом саду Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург) (*Borago officinalis* L., *Brunnera macrophylla* (Adams) I. M. Jihnst., *Echium russicum* S. G. Gmel., *Myosotis arvensis* (L.) Hill, *Ompalodes verna* Moench, *Pulmonaria obscura* Dumort., *P. rubra* Schott) и научно-опытной станции БИН РАН «Отрадное» (Ленинградская область) (*Symphytum asperum* Lepech., *S. officinale* L.). Листья, фиксировались в метаноле в виалах с завинчивающимися крышками (Agilent, US) при комнатной температуре в течение 24 ч, затем хранились в холодильнике. Метанольное извлечение упаривали на роторном испарителе, предварительно извлекая из него растительный материал, который взвешивали после высушивания в термостате при 100 °С. Виалы с экстрактивом хранили в холодильнике.

Количественная оценка содержания исследуемых кислот проводилась методом внутреннего стандарта. В каждую виалу вносили 50 мкг трикозана, добавляли 50 мкл 0,1% р-ра стандартного соединения в пиридине. Полученную смесь подвергали силилированию.

Методика получения триметилсилильных производных. Из известных триметилсилильных реагентов был выбран BSTFA ([N,O-бис-(триметилсилил)трифторацетамид]) (Supelco (US)). В виалы, содержащие исследуемый образец с добавленным стандартом, вводили 20 мкл BSTFA; для обеспечения достаточной полноты протекания реакции силилирования виалы выдерживали в течение 15 мин при температуре 100 °С в специальном термоблоке с последующим хромато-масс-спектрометрическим анализом.

Условия анализа. Образцы исследовали на хромато-масс-спектрометре фирмы Agilent Maestro 7820 с масс-селективным детектором Agilent 5975 D.

Хроматографическое разделение проводили на капиллярной колонке AgilentHP-5MS длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0,25 мкм в режиме программирования температуры. Программа: 70–6°/мин–325° (50 мин), газ-носитель – гелий. Анализ проводился в режиме постоянства скорости газового потока через колонку (1 мл/мин). Температура испарителя 300 °С, деление потока при вводе проб 1:20. Сканирование масс-спектров от 50 до 1050 а.е.м со скоростью 2 скана/сек. Хроматограммы образцов регистрировали по полному ионному току.

Идентификацию розмариновой, кофейной и хлорогеновой кислот в образцах проводили на основании сравнения полученного масс-спектра с данными МС-библиотеки NIST 2011.

Из-за отсутствия стандартов исследуемых кислот количественный анализ проводился в режиме semi-quant (без учета коэффициентов чувствительности).

Результаты и обсуждение

Результаты скринингового исследования листьев некоторых видов семейства *Boraginaceae* на содержание розмариновой, кофейной и хлорогеновой кислот сведены в таблицу.

Как видно из таблицы, у большинства исследованных видов розмариновая кислота накапливалась в различных концентрациях. Следует отметить, что для *Lycopsis arvensis* наличие розмариновой кислоты в листьях указывается впервые. Эти данные согласуются с данными, полученными нами ранее [15], и показывают достаточно устойчивую тенденцию накопления розмариновой кислоты в листьях в период от цветения к плодоношению растений. Так, в частности, у *Brunnera macrophylla*, *Myosotis arvensis*, у исследуемых видов *Pulmonaria*, а также у *Symphytum officinale* и *Ompalodes verna* розмариновая кислота у цветущих растений либо отсутствовала, либо ее обнаруживали в следовых количествах, в то время как у этих же видов, находящихся в стадии плодоношения, ее содержание увеличивалось во много раз. Исключение со-

ставляет лишь *Echium russicum*, в листьях которого розмариновая кислота присутствовала как у цветущих, так и у плодоносящих особей. Сведений о сезонной динамике накопления розмариновой кислоты в литературе немного. Например, есть опубликованные работы, объектом исследования которых служили виды семейства *Lamiaceae*. На основе полученных данных большинство авторов придерживаются мнения, что содержание розмариновой кислоты от бутонизации до цветения либо незначительно (статистически незначимо) возрастает [16], либо вовсе происходит снижение накопления этого соединения [17, 18]. Эти данные не согласуются с данными, полученными в ходе наших исследований (хотя они и не сопоставимы напрямую между собой). Тем не менее очевидно, что в ходе сезонного и, вероятно, возрастного развития растений содержание розмариновой кислоты претерпевает существенные изменения, которые могут зависеть как от внутренних, так и от внешних факторов.

Аналогичная динамика накопления прослеживается и с кофейной кислотой. Она обнаружена у всех исследуемых видов семейства *Boraginaceae* с тенденцией увеличения её содержания от цветения к плодоношению. Наибольшее содержание кофейной кислоты обнаружено у *Brunnera macrophylla* и *Ompalodes verna* в период плодоношения.

Из данных таблицы следует, что хлорогеновая кислота не накапливается у большинства исследуемых видов семейства Бурачниковых. Она была обнаружена в незначительных количествах лишь у *Ompalodes verna* и *Pulmonaria obscura* в период плодоношения и у *Symphytum asperum* в период цветения. К сожалению, в доступной нам литературе нет сведений о содержании хлорогеновой кислоты в период плодоношения у *Symphytum asperum* (это соединение обнаружено нами у окопника шершавого впервые), но накопление хлорогеновой кислоты уже во время цветения дает повод для дальнейших исследований данного вида. В литературе есть данные, что накопление хлорогеновой кислоты зависит, в частности, от степени освещенности листьев [19], но в целом среди изученных видов бурачниковых наибольшее количество хлорогеновой кислоты обнаружено в листьях *Myosotis spasiiflora*.

Содержание розмариновой, кофейной и хлорогеновой кислот у некоторых видов семейства *Boraginaceae* во время цветения и плодоношения, ppm

Образец	Розмариновая кислота		Кофейная кислота		Хлорогеновая кислота	
	цветение	плодоношение	цветение	плодоношение	цветение	плодоношение
<i>Borago officinalis</i> L.	–	...	10	...	–	...
<i>Brunnera macrophylla</i> (Adams) I. M. Jihhnst.	–	5000	10	3910	–	–
<i>Echium russicum</i> S. G. Gmel.	500	300	120	120	–	–
<i>Lappula sguarrosa</i> (Retz.) Dumort.	–	...	10	...	–	...
<i>Lithospermum officinale</i> L.	–	50	следы	550	–	–
<i>Lycopsis arvensis</i> L.	20	...	20	...	–	...
<i>Myosotis arvensis</i> (L.) Hill	–	2000	следы	200	–	–
<i>Myosotis palustris</i> (L.) L.	следы	...	190	...	–	–
<i>Myosotis spasiiflora</i> Porl.	...	3000	следы	1680	...	524900
<i>Ompalodes verna</i> Moench	–	760	1000	4390	–	80
<i>Pulmonaria obscura</i> Dumort.	–	1400	30	260	–	40
<i>Pulmonaria rubra</i> Schott	–	470	следы	720	–	–
<i>Symphytum asperum</i> Lepech.	–	...	следы	...	1100	...
<i>Symphytum officinale</i> L.	–	7700	30	2880	–	–

Примечание. Прочерк означает, что соединение не обнаружено. Следы означают содержание исследуемой кислоты менее 10 ppm; ... – отсутствие данных.

Выводы

Проведено скрининговое исследование содержания розмариновой, кофейной и хлорогеновой кислот в листьях 14 видов семейства *Boraginaceae*. Показано, что кофейная кислота обнаруживается у всех исследуемых представителей *Boraginaceae*. Для *Lycopsis arvensis* наличие розмариновой кислоты в листьях выявлено впервые. Для *Myosotis spasiiflora*, *Ompalodes verna*, *Pulmonaria obscura* и *Symphytum asperum* наличие хлорогеновой кислоты в листьях выявлено впервые. У подавляющего числа исследованных видов содержание розмариновой и кофейной кислот увеличивается в период от цветения к плодоношению.

Список литературы

1. Шагова Л.И., Бобылева Н.С. Сем. *Boraginaceae* // Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 4. Семейства *Caprifoliaceae-Lobeliaceae*. СПб.; М., 2011. С. 122–168.
2. Дайронас Ж.В. Фармакогностическое изучение северокавказских видов сем. бурачниковых (*Boraginaceae*) как источников шиконина и разработка лекарственных средств на их основе : автореф. дис. ... канд. фармац. наук. Пятигорск, 2008. 24 с.
3. Nićiforović N., Mihailović V., Mašković P., Solujić S., Stojković A., Muratspahić D.P. Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants // *Food Chem. Toxicol.* 2010. Vol. 48, N11. Pp. 3125–3130.
4. Бондаренко А.С., Швайгер М.О., Мандрик Т.П., Поддубная Н.М., Скоробогатько Т.И., Мозговая Л.Ф., Колесова Э.А. Антимикробная активность растений ботанических садов Ашхабада и Душанбе // Фитонциды, их биологическая роль и значение для медицины и народного хозяйства. Киев, 1967. С. 102–106.
5. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А., Шретер А.И. Биологически активные вещества растительного происхождения: в 3 т. М., 2001. Т. II. 764 с.
6. Блажей А., Шугый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. М., 1977. С. 22.
7. Растительные ресурсы СССР. Л.–СПб., 1985–1993. Вып. 1.
8. Рубин Б.А., Арциховская Е.Б. Биохимия и физиология иммунитета растений. М., 1968. 412 с.
9. Duke J. A. CRC handbook of medical herbs. Boca Ration (Fla.): CRC press, 1986. 677 p.
10. Буданцев А. Л., Лесиовская Е. Е. Розмариновая кислота: источники и биологическая активность // Растительные ресурсы. 2012. Т. 48, вып. 3. С. 453–468.
11. Jin C.J., Yu S.H., Wang X.-M., Woo S.J., Park H.J., Lee H.C., Choi S.H., Kim K.M., Kim J.H., Park K.S., Jang H.C., Lim S. The effect of lithospermic acid, an antioxidant, on development of diabetic retinopathy in spontaneously obese diabetic rats // *PLoS One*. 2014. Vol. 9, N6. e98232. DOI: 10.1371/journal.pone.0098232.
12. Ozturk H., Terzi E.H., Ozden U., Duran A., Ozturk H. Lithospermic acid and ischemia/reperfusion injury of the rat small intestine prevention // *Adv. Clin. Exp. Med.* 2012. Vol. 21, N4. Pp. 433–439.
13. Chen L., Wang W.Y., Wang Y.P. Inhibitory effects of lithospermic acid on proliferation and migration of rat vascular smooth muscle cells // *Acta Pharmacol. Sin.* 2009. Vol. 30, N9. Pp. 1245–1252.
14. Ghosh A. K., Cheng X., Zhou B. Enantioselective total synthesis of (+)-lithospermic acid // *Org. Lett.* 2012. Vol. 14, N19. Pp. 5046–5049.
15. Буданцев А.Л., Шаварда А.Л., Медведева Н.А., Петрова Н.В., Леострин А.В. Содержание розмариновой кислоты в листьях некоторых видов семейств *Lamiaceae* и *Boraginaceae* // Растительные ресурсы. 2015. Т. 51, вып. 1. С. 11–21.
16. Tóth J., Mrlianová M., Tekel'ová D., Koreňová M. Rosmarinic acid – an important phenolic active compound of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) // *Acta Fac. Pharm. Univ. Comeniana.* 2003. Vol. 50. Pp. 139–146.
17. Ravn H., Pedersen M.F., Andary J., Borum C., Anthoni U., Christophersen C., Nielsen P.H. Seasonal variation and distribution of two phenolic compounds, rosmarinic acid and caffeic acid, in leaves and root-rhizomes of eelgrass (*Zostera marina* L.) // *Ophelia*. 1994. Vol. 40. Pp. 51–61.
18. Chen Y., Zhu Z., Guo Q., Zhang L., Zhang X. Variation in concentrations of major bioactive compounds in *Prunella vulgaris* L. related to plant parts and phenological stages // *Biol. Res.* 2012. Vol. 45, N2. Pp. 171–175.
19. Grace S.C., Logan B.A., Adams W.W. Seasonal differences in foliar content of chlorogenic acid, a phenylpropanoid antioxidant, in *Mahonia repens* // *Plant Cell Environment*. 1998. Vol. 21. Pp. 513–521.

Поступило в редакцию 3 декабря 2014 г.

После переработки 28 января 2015 г.

Petrova N.V.* , Medvedeva N.A., Budantsev A.L., Shavarda A.L. THE CONTENT OF COFFEE, ROSEMARY AND CHLOROGENIC ACID IN THE LEAVES OF SOME SPECIES OF BORAGINACEAE

Botanical Institute V.L. Komarov Russian Academy of Sciences, prof. Popova st., 2, Sankt-Petersburg, 197376 (Russia), e-mail: nnotebook@rambler.ru

The method of gas chromatography-mass spectrometry (as trimethylsilyl derivatives) to determine the content of roses Marina, coffee and chlorogenic acid in the leaves of 14 species of the family Boraginaceae, growing in natural conditions and in conditions of introduction. It is shown that caffeic acid found in all the studied representatives of borage. For *Lycopsis arvensis* presence of rosmarinic acid in the leaves revealed for the first time. For *Myosotis spasiiflora*, *Ompalodes verna*, *Pulmonaria obscura* and *Symphytum asperum* presence of chlorogenic acid in the leaves also revealed for the first time. It was found that in the overwhelming number of species studied the content of rosmarinic and caffeic acids increased in the period from flowering to fruiting.

Keywords: caffeic acid, rosmarinic acid, chlorogenic acid, Boraginaceae.

References

1. Shagova L.I., Bobyleva N.S. *Rastitel'nye resursy Rossii: Dikorastushchie tsvetkovye rasteniia, ikh komponentnyi sostav i biologicheskaya aktivnost'. T. 4. Semeistva Caprifoliaceae-Lobeliaceae.* [Plant Resources of Russia: Wild flowering plants, their composition and biological activity. Vol. 4. Family *Caprifoliaceae-Lobeliaceae.*] St. Petersburg; Moscow, 2011, pp. 122–168. (in Russ.).
2. Daironas Zh.V. *Farmakognosticheskoe izuchenie severokavkazskikh vidov sem. burachnikovykh (Boraginaceae) kak istochnikov shikonina i razrabotka lekarstvennykh sredstv na ikh osnove: Avtoref. dis. ... kand. farmats. nauk.* [North Farmakognostichesky studying species of the family. borage (Boraginaceae) as sources of shikonin and development of drugs based on them: the Dissertation of the candidate of pharmaceutical sciences]. Piatigorsk, 2008, 24 p. (in Russ.).
3. Nićiforović N., Mihailović V., Mašković P., Solujić S., Stojković A., Muratspahić D.P. *Food Chem. Toxicol.*, 2010, vol. 48, no. 11, pp. 3125–3130.
4. Bondarenko A.S., Shvaiger M.O., Mandrik T.P., Poddubnaia N.M., Skorobogat'ko T.I., Mozgovaia L.F., Kolesova E.A. *Fitontsidy, ikh biologicheskaya rol' i znachenie dlia meditsiny i narodnogo khoziaistva.* [Volatile, their biological role and significance for medicine and the national economy]. Kiev, 1967, pp. 102–106. (in Russ.).
5. Golovkin B.N., Rudenskaia R.N., Trofimova I.A., Shreter A.I. *Biologicheski aktivnye veshchestva rastitel'nogo proiskhozhdeniia.* [Biologically active substances of plant origin]. Moscow, 2001, vol. II, 764 p. (in Russ.).
6. Blazhei A., Shutyi L. *Fenol'nye soedineniia rastitel'nogo proiskhozhdeniia.* [Phenolic compounds of plant origin]. Moscow, 1977, p. 22. (in Russ.).
7. *Rastitel'nye resursy SSSR.* Leningrad–St. Petersburg, 1985–1993, no. 1. (in Russ.).
8. Rubin B.A., Artsikhovskaia E.B. *Biokhimiia i fiziologiya immuniteta rastenii.* [The biochemistry and physiology of plant immunity]. Moscow, 1968, 412 p. (in Russ.).
9. Duke J. A. *CRC handbook of medical herbs.* Boca Ration (Fla.): CRC press, 1986. 677 p.
10. Budantsev A. L., Lesiovskaia E. E. *Rastitel'nye resursy*, 2012, vol. 48, no. 3, pp. 453–468. (in Russ.).
11. Jin C.J., Yu S.H., Wang X.-M., Woo S.J., Park H.J., Lee H.C., Choi S.H., Kim K.M., Kim J.H., Park K.S., Jang H.C., Lim S. *PloS One*, 2014, vol. 9, no. e98232. DOI: 10.1371/journal.pone.0098232
12. Ozturk H., Terzi E.H., Ozden U., Duran A., Ozturk H. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2012, vol. 21, no. 4, pp. 433–439.
13. Chen L., Wang W.Y., Wang Y.P. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2009, vol. 30, no. 9, pp. 1245–1252.
14. Ghosh A.K., Cheng X., Zhou B. *Org. Lett.*, 2012, vol. 14, no. 19, pp. 5046–5049.
15. Budantsev A.L., Shavarda A.L., Medvedeva N.A., Petrova N.V., Leostrin A.V. *Rastitel'nye resursy*, 2015, vol. 51, no. 1, pp. 11–21. (in Russ.).
16. Tóth J., Mrlianová M., Tekel'ová D., Koreňová M. *Acta Fac. Pharm. Univ. Comeniana*, 2003, vol. 50, pp. 139–146.
17. Ravn H., Pedersen M.F., Andary J., Borum C., Anthoni U., Christophersen C., Nielsen P.H. *Ophelia*, 1994, vol. 40, pp. 51–61.
18. Chen Y., Zhu Z., Guo Q., Zhang L., Zhang X. *Biol. Res.*, 2012, vol. 45, no. 2, pp. 171–175.
19. Grace S.C., Logan B.A., Adams W.W. *Plant Cell Environment*, 1998, vol. 21, pp. 513–521.

Received December 24, 2013

Revised April 14, 2014

* Corresponding author.

