

УДК 615.322:547

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСТРАКТА *STELLARIA MEDIA (CARYOPHYLLACEAE)*

© А.С. Сухих^{*1}, П.В. Кузнецов¹, Л.С. Теслов²

¹Кемеровская государственная медицинская академия Минздрава России,

ул. Ворошилова, 22а, Кемерово, 650029 (Россия), e-mail: Suhih_as@list.ru

²Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия Минздрава
России, ул. проф. Попова, 14, Санкт-Петербург, 197022 (Россия)

С использованием сефадекса LH-20 и его модифицированного аналога в режиме неклассической аффинной хроматографии проведено разделение на хроматографические фракции, извлечения травы Звездчатки средней. Компонентный состав выделенных фракций проанализирован с использованием ГЖХ-МС и ВЭЖХ. Определены микрокомпоненты, среди которых обнаружено наличие стероидов и некоторых типов алкалоидов производных β -карболина. Показана возможность применения модифицированного сефадекса LH-20 для препаративного выделения флавоноидов. Впервые установлено наличие в экстракте растения некоторых типов серусодержащих фенилпропаноидов, идентифицирован кемпферол.

Ключевые слова: Звездчатка средняя, азоадсорбенты аффинного типа, сефадекс LH-20, кемпферол, алкалоиды, производные β -карболина.

Введение

Представитель рода *Stellaria* Звездчатка средняя (*Stellaria media* (L.) Vill.) распространена повсеместно и рассматривается как сорное растение. В последнее время растения рода *Stellaria* семейства гвоздичных (*Caryophyllaceae*) привлекают внимание исследователей своими биологическими и фармакологическими свойствами [1–4]. По данным литературы, в состав растения входят: флавоноиды, тритерпеновые сапонины, дубильные вещества, аскорбиновая кислота [5, 6]. В недавнем исследовании [1] определено, что растения рода Звездчатка, произрастающие в Западносибирском регионе, содержат полисахариды, тритерпеновые гликозиды олеаноловой кислоты, кумарины, дубильные вещества, каротиноиды, аскорбиновую кислоту. В отличие от произрастающих в европейской части России образцы, собранные на территории Томской области, Красноярском крае, содержат флавоноиды и фенолкарбоновые кислоты лишь в следовых количествах [1]. В работе [7] приведены данные о содержании в *S. media*: синаповой кислоты, витаминов С и Е. В то же время в химии природных веществ известно, что использование различных хроматографических сорбентов для выделения основных компонентов из одного и того же природного объекта приводит к отличительным физико-химическим характеристикам конечного целевого продукта [8]. Цель работы – сравнительное определение состава хроматографических фракций экстракта *Stellaria media* полученных с использованием сефадекса LH-20 и его азо-аналога.

Сухих Андрей Сергеевич – старший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, кандидат фармацевтических наук, доцент, тел.: (3842) 52-18-10, e-mail: suhih_as@list.ru

Кузнецов Петр Васильевич – заведующий кафедрой фармацевтической химии, доктор фармацевтических наук, профессор, тел.: (3842) 35-89-16

Теслов Леонид Степанович – доцент кафедры фармакогнозии, кандидат фармацевтических наук, тел.: (812) 234-57-29

Экспериментальная часть

Растение было собрано на территории Топкинского района Кемеровской области, вблизи села Топки во второй половине июля 2010 г. Сыре подвергнуто сушке в тонком слое в затененном, хорошо проветриваемом помещении. Воздушно-сухое сырье в сентябре

* Автор, с которым следует вести переписку.

2010 г. трехкратно обрабатывали 70%-ным этиловым спиртом содержащим 0,01 М гидроксида натрия. Полученные извлечения объединены и подвергнуты хроматографическому анализу. Этиловый спирт 70%-ный приготовлен из спирта-ректификата ГОСТ 5964-93 по правилам разведения, изложенным в ГФ XI издания.

В качестве сорбентов в работе использовались: сефадекс LH-20 (Sephadex® LH-20 (Pharmacia Shweden), и его модифицированный аналог – азоэпоксиадсорбент аффинного типа (*азо-ААфТ*) синтез которого осуществляли по методике [9]. Наличие оксипропильной перешивки у сефадекса LH-20 определяет характер хроматографического разделения как гель-фильтрационный, адсорбционный и распределительный. Фракции собирали по 1 мл с помощью коллектора (Diafrak, Россия). В качестве элюентов использовали бидистилированную воду (1 по 30 фракций). С 31 по 87 фракции в качестве элюента использовали 0,01 М NaOH.

Полученные пиковые фракции анализировались в режиме ВЭЖХ и ГЖХ-МС. Для ВЭЖХ применяли хроматографическую систему «Альянс» (Waters), оснащенную детектором с фотодиодной матрицей при длине волны 255 нм. Колонка Atlantys C18 (3,9×150 мм) 5 мкм. Элюирование градиентное с использованием 0,1% водного раствора ортофосфорной кислоты и ацетонитрила (78 : 22). Скорость потока составила 1 мл/мин, объем инъекции – 20 мкл. Температура колонки – 30 °C.

Газожидкостная хроматография с масс-спектрометрической детекцией (ГЖХ-МС) выполнена на приборе Finnigan TraceDSA (США) колонка TR-MS, газ-носитель гелий, скорость потока 5 м/мин. Температуру колонки программирували от 100 до 250 со скоростью 10 °C/мин.

Обсуждение результатов

Известно, что метод ГЖХ с масс-спектрометрической детекцией отличается высокой чувствительностью и определенной универсальностью. Эти факторы, в том числе, позволяют использовать метод для анализа извлечений из растительных объектов [10, 11]. В нашем исследовании, метод ГЖХ-МС использован для анализа хроматографических фракций полученных после разделения экстракта на сефадексе LH-20 и его *азо-ААфТ* аналоге. На сефадексе LH-20 в режиме водной элюции были выделены три хроматографические фракции (рис. 1). В Ia фракции методом ГЖХ-МС определены следующие компоненты: лауриновая кислота; 1,5-пентандиол; этилнониловый эфир фталевой кислоты; 1,4-циклогександиметамин; этил-15-метилгексадеканоат; 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-гексадекаметил-холест-5-ен-3-ол; диизооктилфталат; 3,7,11-триметил-(*E,E*)-трихотек-9-ен-4-ол; 2,4-диметил-бензо-γ-хинолин; 2,4,6,-циклогептатриен-1-он; 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-гексадекаметил-2,4,6-циклогептатриен-1-он; декаметилциклогексан.

Фракция IIa содержит: миристиновую кислоту; 9-октадиен; 1,3,5,-триазин-2,4,6,-(*1H,3H,5H*)-трион; 3-фенил-1-бензилиндол; пиридин-3-карбоксамид; декаметилиндолизин; декаметил 1,2,4-триазол-3-амин; 1,4-фенилендин-(2,4,6-триметил)циклогептатриен-1-он; *N*-метил-1-адамантанацетамид; 2,4,6,-циклогептатриен-1-он. Фракция имеющая наибольшее удерживание – IIIa, содержит следующие компоненты: 3-пропокси-*L*-аланин; 1,2-диэтил-1,2-гидразиндикарбоксальдегид; мочевина; 1-(4,7дигидро-2-метил-7-оксо-пиразоло)[1,5-*α*]пиrimидин-5-ил.

В полученных после LH-20 и его *азо-ААфТ* аналога фракциях I и II, методом ГЖХ-МС показано наличие миристиновой и стеариновой кислот. Необходимо отметить, что данные кислоты также обнаружены в черноморской бурой водоросли *Colpomenia peregrina*[12].

В случае применения модифицированного *азо-ААфТ* сорбента было выделено четыре хроматографические фракции (рис. 2). При этом выделена фракция IVb, которая получена в режиме элюции 0,01 М NaOH.

По данным ГЖХ-МС компонентной состав первой хроматографической фракции после *азо-ААфТ* (рис. 2) представлен следующими группами веществ.

Алифатические структуры: Обнаруженные алифатические вещества в выделенных хроматографических фракциях представлены в таблице 1. Можно отметить, что алифатические структуры не обнаружены в первой хроматографической фракции. Тогда как максимальное их количество содержится в IVb хроматографической фракции при элюции раствором 0,01 М NaOH. Это объясняется липофильными свойствами как сорбента, так и удерживаемых веществ.

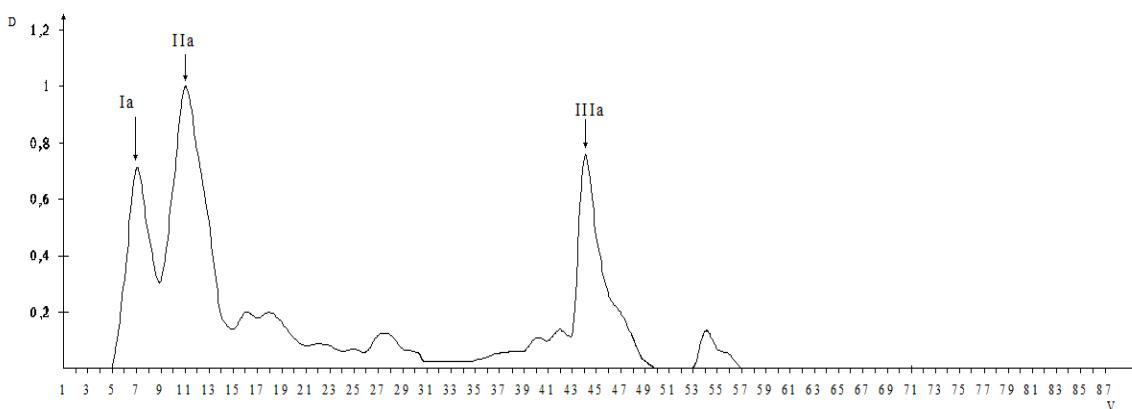


Рис. 1. Хроматограмма извлечения на сепадексе LH-20

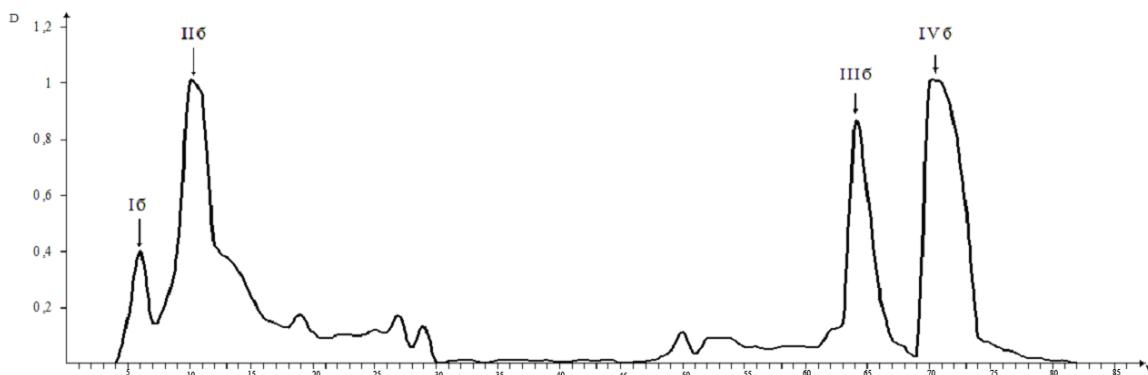


Рис. 2. Хроматограмма извлечения на модифицированном сефадексе LH-20 с иммобилизованными фенольными соединениями из Звездчатки в качестве лиганда [9]

Таблица 1. Алифатические компоненты хроматографических фракций

№	Фракция	Время удерживания, мин	RSI*	Компонент	Формула
1	IIб	20,12	701	2-метилгексадекан-1-ол	
2	IIб	22,37	740	2-гексадеканол	
3	IIб	26,38	796	этиловый эфир гексадекановой кислоты	
4	IIIб	18,01	643	метиловый эфир 10,11-эпокси-7- этил-3,11-диметил-(E,E)-цикло-2,6-тридекадиеновой кислоты	
5	IIIб	26,36	763	этиловый эфир гексадекановой кислоты	
6	IVб	15,52	671	3,7,11- trimетил-1-додеканол	
7	IVб	17,88	756	2,6,10- trimетилтетрадекан	
8	IVб	18,90	727	3,7,11- trimетил-1-додеканол	
9	IVб	19,33	705	2-метил-1-гексадеканол	
10	IVб	20,17	746	2-гексадеканол	
11	IVб	24,00	717	9,12,15-октадекатриеновая кислота	

*см. работу [10].

Ароматические соединения: В хроматографической фракции Iб были определены три производных фталевой кислоты (табл. 2). Вторая фракция (IIб) содержит следующие фталаты: бутилтетрадицилфталат, этилпентадицилфталат, дизооктилфталат.

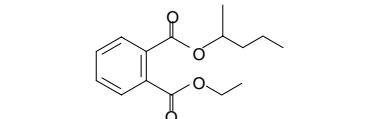
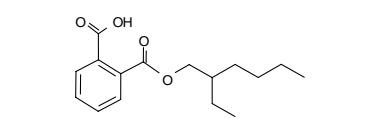
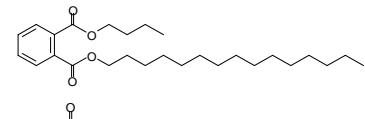
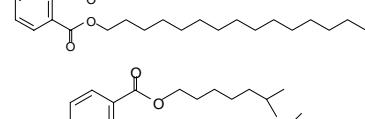
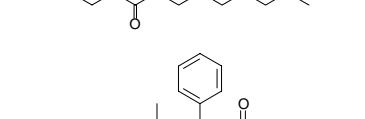
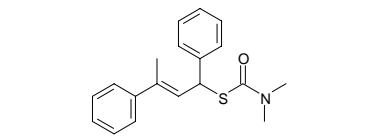
Производные фталевой кислоты с различной структурой алкильного остатка определяются в растениях семейства *Apiaceae*, *Caprifoliaceae*, *Lamiaceae*, *Amaranthaceae* [6, 13, 14]. Известен мощный эффект фталатов как неионогенных ПАВ, этот фактор может обуславливать устойчивость *S. media* к поражению различного типа микромицетов [3].

В IIIб фракции обнаружен 2,6-диизопропилнафталин – вещество, которое по аналогии с известными антимикотическими препаратами тербинафин и хинофунгин (нафтильный фрагмент в структуре) способно проявлять противогрибковые свойства.

Содержащиеся в IIIб фракции: *N,N'*-дibenзоилоксигександиамин и *Z*-фенилметиловый эфир 9-октадекановой кислоты можно рассматривать как производные бензойной кислоты. Интересно, что IIб фракция содержит *N,N*-диметил-*S*-1,3-дифенил-2-бутеновый эфир тиокарбоновой кислоты, который способен проявлять антиоксидантные свойства.

В таблице 3 обобщены данные по обнаруженным стероидным соединениям, их аналогам и другим производным циклоалканов. Так, фракция Iб собранная в режиме водной элюции содержит: 3 α -метокси-18[*N*-метил-*N*-(2'14ЭПОСИЭТИЛ)амино]-3,9-эпоксипрегнан-11 β ,20-диол. Относительно многокомпонентной оказалась фракция IIб, в которой определены: 7-оксо-циклобута[*a*]дibenzo[*c,f*]циклогептадиен; 9,10-секохолеста-5,7,10-триен-3,24,25-триол или 24,25-дигидроксихолекальциферол и [2-(5-гидроксипентил-2-инил)-3-оксоциклопентил]тиоуксусная кислота. В IIIб фракции обнаружен – 4 α -метил-1-метилен-1,2,3,4,4 α 9,10,10 α -октагидрофенантрен.

Таблица 2. Ароматические компоненты хроматографических фракций

№	Фракция	Время удерживания мин	RSI*	Компонент	Формула
I	II	3	4	5	6
1	Iб	25,88	856	изобутилоктадицилфталат	
2	Iб	28,19	935	этан 2-пентилфталат	
3	Iб	35,80	893	моно(2-этилгексил) фталат	
4	IIб	25,88	828	бутилтетрадицилфталат	
5	IIб	28,19	852	этилпентадицилфталат	
6	IIб	35,80	887	дизооктилфталат	
7	IIб	36,10 и 39,76	767 738	<i>N,N</i> -диметил- <i>S</i> -1,3-дифенил-2-бутеновый эфир тиокарбоновой кислоты	

Окончание таблицы 2

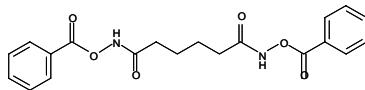
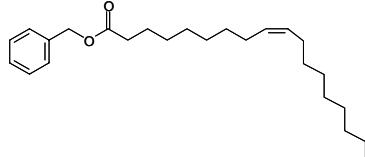
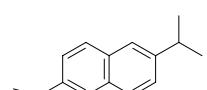
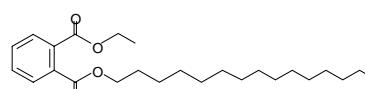
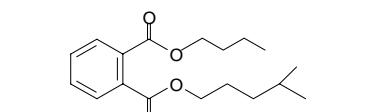
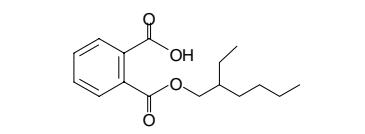
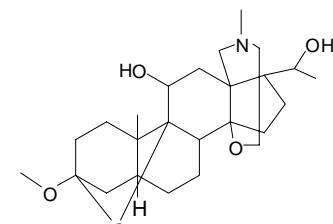
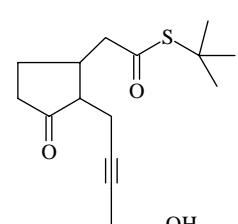
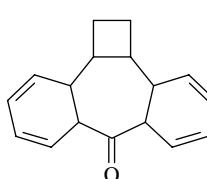
I	2	3	4	5	6
8	IIIб	6,62	771	<i>N,N'</i> -дibenзоилоксигександиамин	
9	IIIб	9,38	696	фенилметиловый эфир Z-9-октадекановой кислоты	
10	IIIб	20,95	849	2,6-диизопропилнафталин	
11	IIIб	22,20	779	этилпентадицилфталат	
12	IIIб	25,90	898	бутилизогексилфталат	
13	IIIб	35,80	911	моно(2-этил)гексилфталат	

Таблица 3. Производные циклоалканов, стероидные соединения и их аналоги содержащиеся в хроматографических фракциях

№	Фрак- ция	Время удерживания мин	RSI*	Компонент	Формула
I	2	3	4	5	6
1	Iб	30,09	638	3 α -метокси-18[N-метил-N-(2'14'- эпоксиэтил)амино]-3,9- эпоксипрег- нан-11 β ,20-диол	
2	IIб	21,13	664	[2-(5-гидроксипентил-2-инил)-3- оксоцикlopентил]тиоуксусная ки- слота	
3	IIб	21,74	662	7-оксо-цикlobута[a]дibenzo [c,f]циклогептадиен	

Окончание таблицы 3

1	2	3	4	5	6
4	IIб	30,10	688	9,10-секохолеста-5,7,10(19)-триен-3,24,25-триол	
5	IIIб	19,91	663	4α-метил-1-митилен-1,2,3,4,4α-9,10,10α-октагидрофенантрен	

Соединения, содержащие гетероцикл и их аналоги определены в II III и IV фракциях (табл. 4). Найдено, что фракция IIб содержит L-аскорбиновую кислоту, птерин-6-карбоновую кислоту и 4-метокси-бметил-5-нитроизобензофуран-1,3-дион. Особый интерес вызывает наличие содержащегося в IIIб фракции 1-ацетил-20α-гидрокси-16-метиленстрихнана и 2,7-дифенил-1,6-диоксопиридазино[4,5:2',3']пирроло[4,5-d]пиридазина обнаруженного в IVб фракции. По нашему мнению, структурные и количественные особенности алкалоидов, содержащихся в *Stellaria*, требует дополнительных исследований. Интересно отметить, что произрастающая в Европе осока парусская (*Carex bnevicensis*) также продуцирует несколько алкалоидов производных β-карболина. Среди прочих бревиколлин и бревикарин [15]. В работе [2], посвященной изучению *S. dichotomata*, впервые были выделены и описаны содержащиеся алкалоиды типа дихотомина I.

Достоверность результатов, полученных методом ГЖХ-МС, может находиться в достаточно широком интервале. Поэтому данные ГЖХ-МС по обнаруженным компонентам растения должны быть обязательно доказаны в дальнейшем, комплексом физико-химических методов в условиях препаративного накопления.

По данным ВЭЖХ, в этой фракции (IVб) содержится флавоноид, идентифицированный нами (по спектральным характеристикам и методом добавок) как кемпферол. Необходимо отметить, что применение азо-ААФТ позволяет осуществлять также и препаративное накопление флавоноидов. Подобные свойства азо-ААФТ были описаны ранее и использованы для определения примеси флавоноидов в препаратах кумаринов [16, 17].

Таблица 4. Компоненты хроматографических фракций, содержащие в структуре гетероцикл

№	Фракция	Время удерживания, мин.	RSI*	Компонент	Формула
1	IIб	18,03	744	птерин-6-карбоновая кислота	
2	IIб	34,63	670	4-метокси-б-метил-5-нитроизобензофуран-1,3-дион	
3	IIIб	22,35	559	1-ацетил-20α-гидрокси-16-метиленстрихнан	
4	IVб	5,50	581	2,7-дифенил-1,6-диоксопиридазино[4,5:2',3']пирроло[4,5-d]пиридазин	

Выходы

Применение сепадекса LH-20 и его модифицированного аналога – азоэпоксиадсорбента аффинного типа позволяют выделить фракции, различающиеся по компонентному составу. В изученных хроматогра-

фических фракциях показано наличие производных фталевой кислоты. Использованный модифицированный сорбент LH-20 в режиме неклассической аффинной хроматографии проявляет селективность при сорбции флавоноидов. Методом ВЭЖХ в хроматографической фракции IVб после азо-ААфт сорбента определено наличие кемпферола. С применением ГЖХ-МС впервые установлены азотсодержащие и серосодержащие компоненты *Stellaria media*, в том числе алкалоиды производные β -карболина и *N,N*-диметил-*S*-1,3дифенил-2-бутилового эфира тиокарбоновой кислоты.

Список литературы

1. Горина Я.В. Фармакогностическое исследование некоторых видов рода *Stellaria* и возможность их использования в медицинской практике: автореф. ... канд. фарм. наук. Пермь, 2012. 25 с.
2. Morikawa T., Sun B., Matsuda H. Wu L.J., Harima S., Yoshikawa M. Bioactive constituents from Chinese natural medicines. XIV. 1) New glycosides of β -carboline-type alkaloid, neolignan, and phenylpropanoid from *Stellaria dichotoma* L. var. lanceolata and their antiallergic activities // Chem. Pharm. Bull. 2004. Vol. 52, N 10. Pp. 1194–1199.
3. Шакуров Р.Р. Антимикробные пептиды сорного растения *Stellaria media* и их гены: экспрессия и устойчивость к фитопатогенным грибам: автореф. ... к.б.н. Москва, 2011. 24 с.
4. Vanhaecke M., Ende W., Laere A., Herdewijn P. Leschinier E. Complete NMR characterization of lychnose from *Stellaria media* (L.) Vill. // Carbohydrate Research. 2006. Vol. 341. Pp. 2744–2750.
5. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения / под ред. Г.П. Яковлева, К.Ф. Блиновой. СПб., 1999. 407 с.
6. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. / отв. ред. А.Л. Буданцев. Т. 1. СПб., 2008. С. 110–112.
7. Телятьев В.В. Полезные растения центральной Сибири. Иркутск, 1985. 384 с.
8. Peuravuori J., Monteiro A., Eglite L., Pihlaja K. Comparative study for separation of aquatic humic-type organic constituents by DAX-8, PVP and DEAE sorbing solids and tangential ultrafiltration: elemental composition, size-exclusion chromatography, UV-vis and FT-IR // Talanta. 2005. Vol. 65. Pp. 408–422.
9. Сухих А.С., Коршунов А.В., Кузнецов П.В. Синтез эпоксиазоадсорбента аффинного типа для выделения и очистки биологически активных веществ звездчатки средней (*Stellaria media* (L.)) // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. Т. 63. 2008. С. 339–341.
10. Пушкарёва Е.С., Ефремов А.А. Компонентный состав эфирного масла полыни холодной (*Artemisia frigida*) Красноярского края и его отдельных фракций // Сорбционные и хроматографические процессы. 2012. Т. 12, вып. 4. С. 619–623.
11. Sabale A. B., Mane A. A. Chemical investigation of *Iphigenia stellata* Blatter by GC-MS // Биоорганическая химия. 2012. Т. 38. № 3. С. 370–373.
12. Усов А.И., Смирнова Г.П., Каменская З., Дмитрова-Конаклиева С.Т., Стефанов К.Л., Попов С.С. Полярные компоненты черноморской буровой водоросли *Colpomenia peregrina* (Sauv.) // Биоорганическая химия. 2004. Т. 30, № 2. С. 182–189.
13. Beck J.J., Shen-Chieh C. The structural diversity of phthalides from the Apiaceae // J. Natur. Prod. 2007. N 5. Pp. 891–900.
14. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Семейства Caprifoliaceae – Lobeliaceae / отв. ред. А.Л. Буданцев. Т. 4. СПб.; М., 2011. 630 с.
15. Семенов А.А. Очерк химии природных соединений. Новосибирск, 2000. 664 с.
16. А.с. № 1770897 (СССР). Способ разделения и выделения кумаринов / П.В. Кузнецов, В.В. Шкаренда. 1992.
17. Шкаренда В.В. Исследование адсорбентов аффинного типа для разделения, очистки и анализа кумаринов и их производных и кумаринсодержащих лекарственных средств: автореф. ... канд. фарм. наук, СПб, 1992. 24 с.

Поступило в редакцию 1 ноября 2013 г.

После переработки 22 апреля 2014 г.

Sukhikh A.S.^{1*}, Kuznetsov P.V.¹, Teslov L.S.² THE CHROMATOGRAPHY CHARACTERISTIC EXTRACT STELLARIA MEDIA (CARYOPHYLLACEAE)

¹Kemerovo State Medical Academy, Russian Ministry of Health, st. Voroshilov, 22a, Kemerovo, 650029 (Russia)

e-mail: Suhih_as@list.ru

²Saint-Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy of Ministry of Health of Russia, ul. prof. Popov, 14, St. Petersburg, 197022 (Russia)

Research of components of extract of a grass of *Stellaria* is carried out. Sphadex LH-20 and its changed analog in way NAFC division on parts of chromatographyc that are analysed with HPLC and GLC-MS use. It show that use of modified sephadex LH-20, is possible flavonoids preparation distributions. In research, the maintenance of some types alkaloid derivatives is revealed β -carbolins. For the first time presence at extract of a plant of cempferol is established.

Keywords: *Stellaria media*, epoxyzaodsorbent affinity type, sephadex LH-20, cempferol, alkaloid derivatives β -carbolins type.

References

1. Gorina Ja.V. *Farmakognosticheskoe issledovanie nekotoryh vidov roda Stellaria i vozmozhnost' ih ispol'zo-vanija v medicinskoj praktike. Diss. kand. farm. nauk.* [Farmakognostichesky study of some species of the genus *Stellaria* and the possibility of their use in medical practice. Candidate of Pharmaceutical Sciences diss.]. Perm', 2012, 25 p. (in Russ.).
2. Morikawa T., Sun B., Matsuda H. Wu L.J., Harima S., Yoshikawa M. *Chem. Pharm. Bull.*, 2004, vol. 52, no. 10, pp. 1194–1199.
3. Shakurov R.R. *Antimikrobye peptidy sornogo rastenija Stellaria media i ih geny: jekspresija i ustojchi-vost' k fitopatogennym gribam. Diss. kand. bio. nauk.* [Antimicrobial peptides weed *Stellaria media* and their genes: expression and resistance to phytopathogenic fungi. Candidate of Biological Sciences diss.]. Moskva, 2011, 24 p. (in Russ.).
4. Vanhaecke M., Ende W., Laere A., Herdewijn P., Leschinier E. *Carbohydrate Research*, 2006, vol. 341, pp. 2744–2750.
5. *Jenciklopedicheskij slovar' lekarstvennyh rastenij i produktov zhivotnogo proishozhdenija.* [Encyclopedic Dictionary of medicinal plants and animal products]. Ed. G.P. Jakovlev, K.F. Blinova. Sankt-Peterburg, 1999, 407 p. (in Russ.).
6. *Rastitel'nye resursy Rossii: Dikorastushhie cvetkovye rastenija, ih komponentnyj sostav i biologicheskaja aktivnost'.* [Plant Resources of Russia: Wild flowering plants, their composition and biological activity]. Ed. A.L. Budancev. vol. 1, Sankt-Peterburg; Moscow, 2008, pp. 110–112. (in Russ.).
7. Teljat'ev V.V. *Poleznye rastenija central'noj Sibiri.* [Useful plants of central Siberia]. Irkutsk, 1985, 384 p. (in Russ.).
8. Peuravuori J., Monteiro A., Eglite L., Pihlaja K. *Talanta*, 2005, vol. 65, pp. 408–422.
9. Suhih A.S., Korshunov A.V., Kuznecov P.V. *Razrabotka, issledovanie i marketing novoj farmaceviticheskoy produkci.* [Development, research and marketing of new pharmaceutical products]. 2008, vol. 63, pp. 339–341. (in Russ.).
10. Pushkareva E.S., Efremov A.A. *Sorbcionnye i hromatograficheskie processy*, 2012, vol. 12, no. 4, pp. 619–623. (in Russ.).
11. Sabale A. B., Mane A. A. *Bioorganicheskaja himija*, 2012, vol. 38, no. 3, pp. 370–373. (in Russ.).
12. Usov A.I., Smirnova G.P., Kamenaskaja Z., Dmitrova-Konaklieva S.T., Stefanov K.L., Popov S.S. *Bioorganicheskaja himija*, 2004, vol. 30, no. 2, pp. 182–189. (in Russ.).
13. Beck J.J., Shen-Chieh C. *J. Natur. Prod.*, 2007, no. 5, pp. 891–900.
14. *Rastitel'nye resursy Rossii: Dikorastushhie cvetkovye rastenija, ih komponentnyj sostav i biologicheskaja aktivnost'. Semejstva Caprifoliaceae – Lobeliaceae.* [Plant Resources of Russia: Wild flowering plants, their composition and biological activity. Family Caprifoliaceae-Lobeliaceae]. Ed. A.L. Budancev. vol. 4, St. Petersburg; Moscow, 2011, 630 p. (in Russ.).
15. Semenov A.A. *Ocherk himii prirodyh soedinenij.* [Sketch of Chemistry of Natural Compounds]. Novosibirsk, 2000. 664 p.
16. Patent 1770897 (USSR). 1992. (in Russ.).
17. Shkarenda V.V. *Issledovanie adsorbentov affinnogo tipa dlja razdelenija, ochistki i analiza kumarinov i ih proizvodnyh i kumarin soderzhashhih lekarstvennyh sredstv: Diss. kand. farm. nauk.* [Investigation of such adsorbents for affinity separation, purification and analysis of coumarins and coumarin derivatives and drugs containing. Candidate of Pharmaceutical Sciences diss.]. St. Petersburg, 1992, 24 p. (in Russ.).

Received November 1, 2013

Revised April 22, 2014

* Corresponding author.