

УДК 615.322

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОПТИЗИНА В ТРАВЕ ХОХЛАТКИ КРУПНОПРИЦВЕТНИКОВОЙ (*CORYDALIS BRACTEATA*) МЕТОДОМ ВЭЖХ\*

© В.И. Топоркова<sup>1</sup>, А.О. Уэйли<sup>1</sup>, А.К. Уэйли<sup>1\*\*</sup>, М.Ю. Гончаров<sup>1</sup>, Е.И. Гулина<sup>2</sup>, В.Г. Лужанин<sup>3</sup>, М.В. Белоусов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, ул. профессора Попова, 14, Санкт-Петербург, 197376, Россия, andrey.ueyli@pharminnotech.com

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет, Московский тракт, 2, Томск, 634050, Россия

<sup>3</sup> Пермская государственная фармацевтическая академия, ул. Екатерининская, 110, Пермь, 614990, Россия

Коптизин относится к группе протобербериновых алкалоидов изохинолинового ряда и в большом количестве содержится в траве хохлатки крупноприцветниковой (*Corydalis bracteata* Pers.). Согласно литературным данным, коптизин оказывает антибактериальное, противовоспалительное, кардиопротекторное и противоопухолевое действие, таким образом, широкий спектр фармакологической активности обуславливает необходимость определения его количественного содержания в сырье. Ранее авторами статьи была разработана методика выделения коптизина из надземной части *C. bracteata*, целью данного исследования является разработка методики количественного определения коптизина в траве хохлатки крупноприцветниковой и подбор оптимальных условий экстракции. В результате количественного определения коптизина в траве *C. bracteata* установлено, что максимальный выход коптизина из сырья при экстрагировании в оптимальных условиях составляет 2.59%, при этом максимальное содержание коптизина установлено в листьях и составляет 3.97%. В результате исследования проведена валидация ВЭЖХ-методики количественного определения коптизина. В литературе отсутствуют сведения о методике количественного определения коптизина, что обуславливает новизну данного исследования.

**Ключевые слова:** коптизин, хохлатка крупноприцветниковая, *Corydalis bracteata*, алкалоид, количественное определение, ВЭЖХ.

**Для цитирования:** Топоркова В.И., Уэйли А.О., Уэйли А.К., Гончаров М.Ю., Гулина Е.И., Лужанин В.Г., Белоусов М.В. Количественное определение коптизина в траве хохлатки крупноприцветниковой (*Corydalis bracteata*) методом ВЭЖХ // Химия растительного сырья. 2025. №2. С. 277–285. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250215112>.

### Введение

Хохлатка крупноприцветниковая (*Corydalis bracteata* Pers.) – многолетнее травянистое растение семейства *Papaveraceae* высотой около 35 см с тройчаторассеченными листьями, прямостоячим стеблем и дуговидно изогнутыми крупными цветками желтого цвета с восходящим шпорцем, собранными в соцветие кисть. На территории Российской Федерации *C. bracteata* произрастает на опушках хвойно-лиственных лесов и лугах Томской, Кемеровской, Иркутской областей, в Красноярском крае и Прибайкалье.

Растения рода *Corydalis* являются богатыми источниками разнообразных групп изохинолиновых алкалоидов, включая представители группы бензофenantридина, протоберberина, апорфина, протопина и изохинолиновых фталидов. Представители данного рода широко используются в традиционной медицине Юго-Восточной Азии, особенно в Китае, где они применяются для лечения простуды, гипертонии, гепатита, кровотечений, отеков, гастрита, сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний наряду с

\*Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.20250215112s

\*\* Автор, с которым следует вести переписку.

неврологическими расстройствами. Учитывая выраженную физиологическую активность большинства алкалоидов, можно с уверенностью предположить, что именно благодаря наличию данных веществ в растениях рода *Corydalis* они находят применение в традиционной медицине, что делает алкалоиды наиболее значимыми вторичными метаболитами данных растений [1].

Во всех частях растения *C. bracteata* были обнаружены алкалоиды протоберберинового ряда – коридалин, дегидрокоридалин, пальматин, тетрагидропальматин и коптизин [2]. В индивидуальном виде из травы *C. bracteata* были выделены флавоноиды, а также пять протобербериновых алкалоидов – изогроенландицин, ятроризин, дегидрокоридалин, пальматин, коптизин и исследовано их влияние на ингибиование активации тромбоцитов [3, 4]. Протобербериновые алкалоиды широко известны своими фармакологическими свойствами [5–7]. Ятроризин проявляет антидиабетическую, противомикробные, противопротозойные, противораковые и гиполипидемические свойства, а также оказывает влияние на центральную нервную систему [8]. Дегидрокоридалин оказывает противовоспалительное, апоптотическое, противоаллергическое, антиацилхолинэстеразное и противоопухолевое действие [9]. Пальматин обладает противовоспалительными, противовирусными и нейропротекторными свойствами, его также применяли при лечении желтухи, дизентерии, гипертонии, воспалений и заболеваний печени [10]. В сравнении с остальными алкалоидами коптизин был выделен в наибольшем количестве из травы *C. bracteata* и, соответственно, представляет наибольший интерес для дальнейшего изучения. Различными группами исследователей для выделения и идентификации алкалоидов протоберберинового ряда использовали разнообразные хроматографические методы, такие как высокоскоростная противоточная хроматография, ВЭЖХ-УФ, ВЭЖХ-МС, масс-спектрометрия ионного циклотронного резонанса, а также двумерная жидкостная хроматография с обращенной фазой [11–14].

Коптизин (7,8,13,13а-тетрадегидро-2,3-9,10-бис(метилендиокси)бербиний) – алкалоид изохинолинового ряда, производное протоберberина, ранее обнаруженный в ряде растений, в том числе в траве *C. bracteata* [15–17]. Согласно литературным данным, коптизин обладает противовоспалительным действием, подавляя экспрессию провоспалительных цитокинов и снижая их уровень, а также оказывает положительное влияние на течение заболеваний сердечно-сосудистой системы путем подавления аутофагии и апоптоза кардиомиоцитов, тем самым снижая вероятность возникновения инфаркта и его длительность [18, 19]. Также в ранее проведенных исследованиях отмечалось, что коптизин ингибирует рост, миграцию и инвазию раковых клеток, что дает возможность применять его для сопутствующего лечения гепатоцеллюлярной карциномы, рака легких и поджелудочной железы [20]. Помимо вышеперечисленного, имеются сведения об антибактериальном, противогрибковом, антиоксидантном, нейропротекторном и антигиперхолистеринемическом эффектах коптизина [19, 21–23]. Такой широкий спектр фармакологической активности обусловливает необходимость изучения возможности выделения данного алкалоида из растительного сырья в индивидуальном виде и определения его количественного содержания в траве *C. bracteata* для создания активных фармацевтических субстанций на основе сырья. Целью данного исследования является разработка методики количественного определения коптизина в траве хохлатки крупноприцветниковой и подбор оптимальных условий экстракции для увеличения выхода коптизина из сырья.

### **Экспериментальная часть**

Для проведения анализа использовали высушеннную воздушно-теневым методом траву *C. bracteata*, собранную на территории Ботанического института им. Комарова РАН ( $59^{\circ}58'15''$  с.ш.,  $30^{\circ}19'35.407''$  в.д.) в мае 2021 г. Сырье измельчали, просеивали сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Точную навеску сырья подвергали экстракции спиртом этиловым 50% в соотношении сырье (г): экстрагент (мл), равном ( $5.0 \pm 0.03$ ) : 100 (1 : 20). Выбор экстрагента основан на данных, полученных при проведении предварительных ВЭЖХ анализов водного, спиртового (концентрации спирта 50, 70, 96%) и дихлорметанового извлечений из травы *C. bracteata*, полученных методом мацерации в течение 3 дней, в результате которых экстракция с использованием спирта этилового 50% показала наибольшее содержание коптизина (табл. 1).

Получение извлечений 50% этиловым спиртом проводилось в трех повторностях при различных условиях: настаивание с использованием ультразвуковой бани в течение 1 и 2 ч, нагревание на водяной бане с обратным холодильником в течение 0.5, 1, 2, 3 ч, кратность экстракции – n=3.

Таблица 1. Содержание коптизина в извлечениях, полученных с использованием различных растворителей и выход коптизина из сырья травы хохлатки крупноприцветниковой ( $n=3$ , среднее $\pm$ SD).

Экстрагент	Концентрация коптизина в извлечении, г/л	Содержание коптизина сырье, %
Вода	0.0063 $\pm$ 0.00032	0.017 $\pm$ 0.0011
Спирт этиловый 50%	0.083 $\pm$ 0.0021	0.239 $\pm$ 0.013
Спирт этиловый 70%	0.049 $\pm$ 0.0051	0.156 $\pm$ 0.0049
Спирт этиловый 96%	0.014 $\pm$ 0.0031	0.041 $\pm$ 0.0034
Дихлорметан	0.0045 $\pm$ 0.00019	0.010 $\pm$ 0.0005

Анализ полученных извлечений проводили методом аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе Prominence LC-20 (Shimadzu, Япония), оснащенном диодно-матричным детектором, при 235 нм. Применялась хроматографическая колонка SUPELCOSIL LC-18 (25 см  $\times$  4.6 мм) с размером частиц 5 мкм. Скорость потока элюента – 1 мл/мин. Элюент: вода с содержанием трифтормукусной кислоты (ТФУ) 0.1% (компонент А), ацетонитрил (HPLC Far UV Gradient Grade, J.T.Baker, Польша) с содержанием трифтормукусной кислоты 0.1% (компонент В), использовался следующий режим элюирования: 0–5 мин,  $H_2O : CH_3CN$  95 : 5; 5–35 мин,  $H_2O : CH_3CN$  от 95 : 5 до 25 : 75. Температура анализа – 40 °C. В качестве стандартного образца использовали индивидуальное соединение – коптизин, выделенное авторами в предыдущих исследованиях [10].

Определение влажности травы хохлатки крупноприцветниковой для дальнейшего расчета содержания коптизина в сырье осуществляли на анализаторе влажности Sartorius MA-30 («Sartorius» AG, Германия). Время анализа – 10 минут, температура анализа – 110 °C.

Диапазон измеряемых концентраций: 0.01–0.5%.

Концентрацию коптизина в полученных извлечениях из травы *C. bracteata* при ВЭЖХ-анализе определяли методом абсолютной градуировки. Для этого готовили спиртовые (50%) растворы коптизина известной концентрации и строили график зависимости площади пика на хроматограмме от концентрации (рис. 1). Рассчитанный предел детектирования (LOD) равен 0.01 г/л, предел количественного определения (LOQ) равен 0.03 г/л.

Содержание коптизина в растительном сырье рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{C' \cdot V \cdot 0.906 \cdot 100}{m \cdot (1.0 - W)},$$

где X – содержание коптизина в растительном сырье, %; C' – концентрация коптизина в извлечении, г/л; V – объем экстрагента, используемого для приготовления экстракта, л; 0.906 – коэффициент пересчета коптизина с учетом чистоты стандартного образца; m – масса навески сырья, г; W – влажность растительного сырья (0.1–0.13).

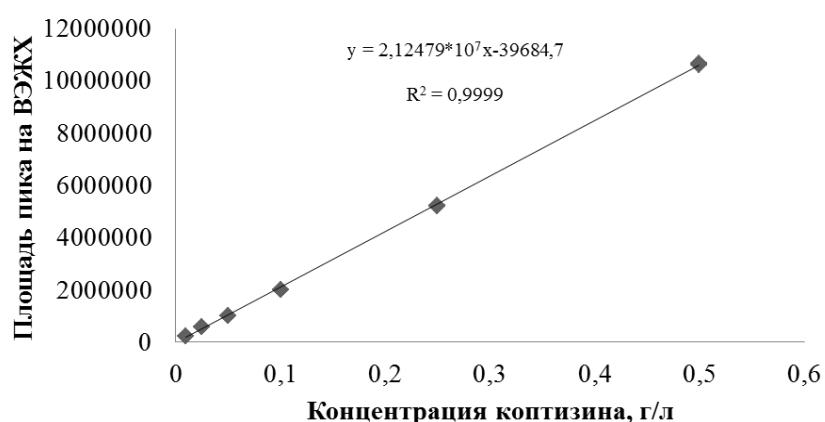


Рис. 1. График линейной зависимости концентрации от площадей пика стандартных образцов коптизина в диапазоне концентрация от 0.01 г/л до 0.5 г/л

### **Обсуждение результатов**

В соответствии с данными, представленными в таблице 2, оптимальными условиями получения извлечения из травы хохлатки крупноприцветниковой с целью количественного определения коптизина в сырье является нагревание на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин, концентрация коптизина при данных условиях в экстракте составляет 0.083 г/л и содержание в растительном сырье –  $0.239 \pm 0.013\%$ . В качестве экстрагента необходимо использовать спирт этиловый 50%.

В результате анализа различных частей растения *C. bracteata* установлено, что в листьях – наибольшее содержание коптизина в сравнении с другими частями и составляет  $0.359 \pm 0.0042\%$  (табл. 3).

#### *Валидация ВЭЖХ-методики количественного определения коптизина*

Методика количественного определения была валидирована на основании полученных результатов и их последующей статистической обработки в соответствие с общей фармакопейной статьей ОФС.1.1.0013.15. (ГФ XIV) «Статистическая обработка результатов эксперимента». Методику оценивали по показателям специфичности, линейности, правильности, прецизионности в соответствии с общей фармакопейной статьей ОФС. 1.1.0012.15. (ГФ XIV) «Валидация аналитических методик»

*Специфичность* метода ВЭЖХ доказана на основании полученных хроматограмм суммарного экстракта, стандарта коптизина и используемого растворителя. Мы подтвердили специфичность определения совпадением времени удерживания коптизина на хроматограммах суммарного экстракта и стандартного образца (рис. 2). При выбранных условиях время удерживания коптизина составляет 27.4 мин, в то время как других компонентов, относящихся преимущественно к классу флавоноидов, – от 15.0 до 25.5 мин [3, 4]. Отсутствует наложение других пиков суммарного экстракта.

*Пригодность* хроматографической системы определения коптизина оценивали путем многократного анализа стандартного образца коптизина: коэффициент удерживания соединения составлял 6.711 (1-5), эффективность колонки (N) – 55652 теоретических тарелок ( $>5000$ ), среднее значение фактора асимметрия пика коптизина – 3.4358 (превышает 1.5). Однако как видно следует из таблицы 4, коэффициент вариации составляет 1.96% и среднее значение фактора асимметрии укладывается в доверительный интервал.

*Линейность* методики была исследована на 6 растворах стандартного образца в диапазоне концентраций 0.01–0.5 г/л. Коэффициент корреляции  $R^2 = 0.999$  ( $>0.9950$ ) при  $y = 2.12479 * 10^7 x - 39684.7$ . По результатам хроматографического анализа строили график градуировочной зависимости отношения площадей пиков СО коптизина к их концентрации. График линейной зависимости строили при помощи программы Microsoft Excel 2019.

*Правильность методики.* Оценка правильности методики проводилась путем расчета процента определения известной концентрации, стандартного отклонения и коэффициента вариации, доверительного интервала для меры положения – среднего значения (табл. 5). За аргумент взята средняя концентрация коптизина в извлечениях для уровня 100% – 0.09 г/л.

Таблица 2. Концентрации коптизина в извлечениях из травы хохлатки крупноприцветниковой, полученных при различных условиях ( $n=3$ , среднее  $\pm SD$ )

Условия экстрагирования (экстрагент – спирт этиловый 50%)	Концентрация коптизина в извлечении, мг/мл	Содержание коптизина в сырье, %
Настаивание с использованием ультразвуковой бани в течение 1 ч	0.063 $\pm$ 0.0039	0.146 $\pm$ 0.0089
Настаивание с использованием ультразвуковой бани в течение 2 ч	0.061 $\pm$ 0.0030	0.138 $\pm$ 0.0044
Нагревание на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин	0.102 $\pm$ 0.0048	0.235 $\pm$ 0.011
Нагревание на водяной бане с обратным холодильником в течение 1 ч	0.102 $\pm$ 0.0041	0.233 $\pm$ 0.0036
Нагревание на водяной бане с обратным холодильником в течение 2 ч	0.101 $\pm$ 0.0046	0.231 $\pm$ 0.0016
Нагревание на водяной бане с обратным холодильником в течение 3 ч	0.101 $\pm$ 0.0038	0.230 $\pm$ 0.0087

Таблица 3. Содержание коптизина в разных морфологических частях *C. bracteata* ( $n=3$ , среднее  $\pm SD$ )

Часть растения	Концентрация коптизина в экстракте, мг/мл	Содержание коптизина в сырье, %
Цветки	0.075 $\pm$ 0.0042	0.172 $\pm$ 0.0010
Стебли	0.072 $\pm$ 0.0039	0.166 $\pm$ 0.0049
Листья	0.157 $\pm$ 0.0072	0.359 $\pm$ 0.0042

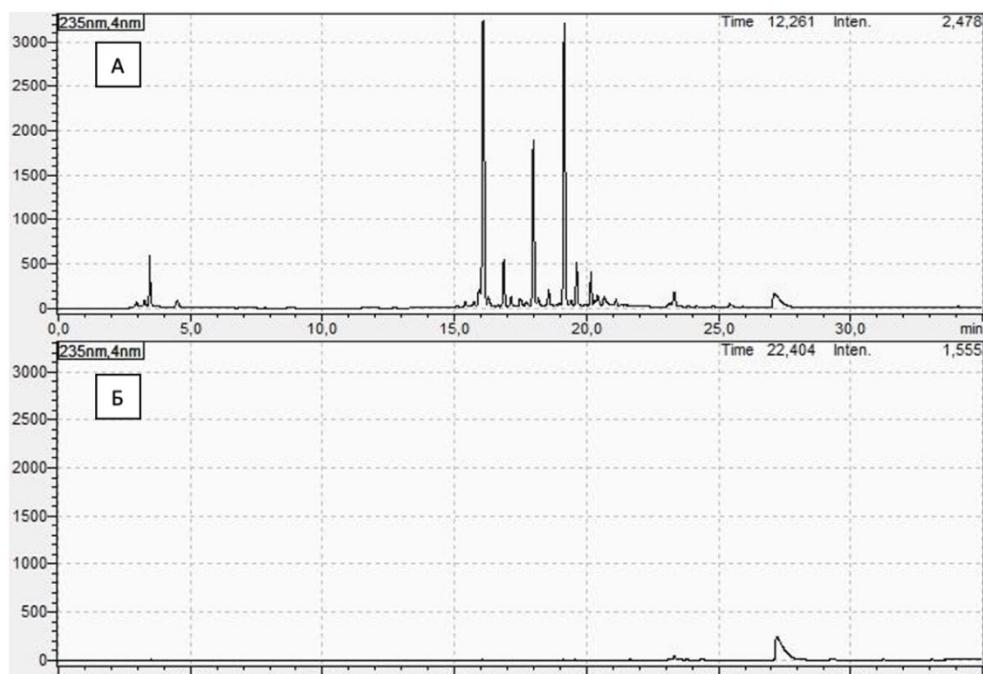


Рис. 2. Хроматограммы 50% спиртового экстракта травы *C. bracteata* (А), коптизина в концентрации 0.1 г/л (Б)

Таблица 4. Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении фактора асимметрии пика коптизина в методике ВЭЖХ ( $n=3$ ,  $p=95\%$ )

Статистический показатель	Результат
Среднее значение	3.4358
Стандартное отклонение	0.06743
Относительное стандартное отклонение (коэффициент вариации), %	1.96%
Нижняя граница 95% доверительного интервала	3.3767
Верхняя граница 95% доверительного интервала	3.4949

Таблица 5. Результаты определения правильности методики количественного определения коптизина в экстрактах из травы *Corydalis bracteata*

Уровень концентрации, %	Взято, г/л ( $C_1$ )	Найдено, г/л ( $C_2$ )	Абсолютная ошибка, мг/мл ( $d=C_2-C_1$ )	Относительная ошибка, % ( $Y=d \times 100/C_1$ )	Найдено, %	Метрологические характеристики ( $P=95\%$ , $n=3$ )
80	0.0728	0.0734	0.0006	0.824	100.82	$\bar{x}=100.64$ $S=0.844$ $\Delta x=2.1$ $RSD=0.69\%$
	0.0649	0.0658	0.0009	1.387	101.38	
	0.0718	0.0716	-0.0002	0.278	99.72	
100	0.0914	0.0910	-0.0004	0.437	99.56	$\bar{x}=99.85$ $S=0.410$ $\Delta x=1.02$ $RSD=0.33\%$
	0.0921	0.0924	0.0003	0.325	100.32	
	0.0918	0.0915	-0.0003	0.327	99.67	
120	0.1101	0.1096	-0.0005	0.454	99.54	$\bar{x}=99.78$ $S=0.933$ $\Delta x=2.32$ $RSD=0.76\%$
	0.1106	0.1115	0.0009	0.813	100.81	
	0.1088	0.1077	-0.0011	1.011	98.99	

Как следует из таблицы 5, коэффициент вариации составляет менее 2% (0.76%). Доверительный интервал среднего значения включает 100%-е значение.

Для оценки *прецизионности* (сходимости) результатов был рассчитан коэффициент вариации (RSD), не превышающий 1% (0.76%).

## **Выходы**

В результате количественного определения коптизина в траве *C. bracteata* Pers. методом ВЭЖХ, установлено, что максимальный выход коптизина при экстрагировании в оптимальных условиях составляет 0.235%. Оптимальными условиями пробоподготовки сырья является нагревание в течение 30 мин на водяной бане с обратным холодильником с использованием в качестве экстрагента спирта этилового 50%. Также в результате изучения различных частей растения было установлено, что в листьях содержание коптизина в 2.2 раза выше, чем в стеблях, и в 2.1 раза выше, чем в цветках, и составляет  $0.359 \pm 0.0042\%$ ,  $0.166 \pm 0.0049\%$  и  $0.172 \pm 0.0010\%$  соответственно. Проведена валидация ВЭЖХ-методики количественного определения коптизина, в результате которой доказана специфичность, линейность, правильность и прецизионность данной методики. Полученные данные в дальнейшем могут быть использованы для определения подлинности и доброкачественности травы *C. bracteata* Pers.

### **Дополнительная информация**

В электронном приложении к статье (*DOI: <http://www.doi.org/10.14258/jcprm.20250215112s>*) приведен дополнительный экспериментальный материал, раскрывающий основные положения, изложенные в статье.

### **Финансирование**

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета, Пермской государственной фармацевтической академии и Сибирского государственного медицинского университета. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

### **Конфликт интересов**

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### **Открытый доступ**

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

## **Список литературы**

1. Deng A.P., Zhang Y., Zhou L., Kang C.Z., Lv C.G., Kang L.P., Nan T.G., Zhan Z.L., Guo L.P., Huang L.Q. Systematic review of the alkaloid constituents in several important medicinal plants of the Genus *Corydalis* // Phytochemistry. 2021. Vol. 183. 112644. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112644>.
2. Khodorova N.V., Shavarda A.L., Lequart-Pillon M., Laberche J.C., Voitsekhovskaja O.V., Boitel-Conti M. Biosynthesis of benzylisoquinoline alkaloids in *Corydalis bracteata*: compartmentation and seasonal dynamics // Phytochemistry. 2013. Vol. 92. Pp. 60–70. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.04.008>.
3. Whaley A.O., Whaley A.K., Toporkova V., Fock E., Rukoyatkina N., Smirnov S.N., Satimov G.B., Abduraxmanov B.A., Gambaryan S. Bracteatinine and isogroenlandicine, two new isoquinoline alkaloids isolated from *Corydalis bracteata* and their effect on platelet function // Fitoterapia. 2023. Vol. 171. 105697. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105697>.
4. Топоркова В.И., Понкратова А.О., Уэйли А.К., Лужанин В.Г., Гончаров М.Ю. Применение спектральных методов анализа для установления структуры индивидуальных вторичных метаболитов, выделенных из надземной части хохлатки крупноприцветниковой // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2022. Т. 12, №1. С. 56–64. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-1-56-64>.
5. Da-Cunha E.V., Fechinei I.M., Guedes D.N., Barbosa-Filho J.M., Da Silva M.S. Protoberberine alkaloids // The Alkaloids: Chemistry and Biology. 2005. Vol. 62. Pp. 1–75. [https://doi.org/10.1016/s1099-4831\(05\)62001-9](https://doi.org/10.1016/s1099-4831(05)62001-9).
6. Grycová L., Dostál J., Marek R. Quaternary protoberberine alkaloids // Phytochemistry. 2007. Vol. 68, no. 2. Pp. 150–175. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.10.004>.
7. Sharma D., Sharma N., Manchanda N., Prasad S.K., Sharma P.C., Thakur V.K., Rahman M.M., Dhobi M. Bioactivity and *in silico* studies of isoquinoline and related alkaloids as promising antiviral agents: an insight // Biomolecules. 2022. Vol. 13, no. 1. 17. <https://doi.org/10.3390/biom13010017>.
8. Zhong F., Chen Y., Chen J., Liao H., Li Y., Ma Y. Jatrorrhizine: a review of sources, pharmacology, pharmacokinetics and toxicity // Frontiers in Pharmacology. 2022. Vol. 12. 783127. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.783127>.
9. Lee J., Sohn E.J., Yoon S.W., Kim C.G., Lee S., Kim J.Y., Baek N., Kim S.H. Anti-metastatic effect of dehydrocorydaline on H1299 non-small cell lung carcinoma cells via inhibition of matrix metalloproteinases and B cell lymphoma 2 // Phytotherapy Research. 2017. Vol. 31, no. 3. Pp. 441–448. <https://doi.org/10.1002/ptr.5766>.

10. Grabarska A., Wróblewska-Łuczka P., Kukula-Koch W., Łuszczki J.J., Kalpoutzakis E., Adamczuk G., Skaltsounis A.L., Stepulak A. Palmatine, a bioactive protoberberine alkaloid isolated from *Berberis cretica*, inhibits the growth of human estrogen receptor-positive breast cancer cells and acts synergistically and additively with doxorubicin // Molecules. 2021. Vol. 26, no. 20. 6253. <https://doi.org/10.3390/molecules26206253>.
11. Ren L., Xue X., Zhang F., Xu Q., Liang X. High performance liquid chromatography-mass spectrometry analysis of protoberberine alkaloids in medicine herbs // Journal of Separation Science. 2007. Vol. 30, no. 6. Pp. 833–842. <https://doi.org/10.1002/jssc.200600246>.
12. Tong S., Yan J., Lou J. Preparative isolation and purification of alkaloids from *Corydalis yanhusuo* W.T. Wang by high speed counter current chromatography // Journal of liquid chromatography & related technologies. 2005. Vol. 28, no. 18. Pp. 2979–2989. <https://doi.org/10.1080/10826070500274638>.
13. Wu W., Song F., Yan C., Liu Z., Liu S. Structural analyses of protoberberine alkaloids in medicine herbs by using ESI-FT-ICR-MS and HPLC-ESI-MS(n) // Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 2005. Vol. 37, no. 3. Pp. 437–446. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2004.11.026>.
14. Wei X., Shen H., Wang L., Meng Q., Liu W. Analyses of total alkaloid extract of *Corydalis yanhusuo* by comprehensive RP × RP liquid chromatography with pH difference // Journal of Analytical Methods in Chemistry. 2016. Vol. 2016. Pp. 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/9752735>.
15. Nakanieczna S., Grabarska A., Gawel K., Wróblewska-Łuczka P., Czerwonka A., Stepulak A., Kukula-Koch W. Isoquinoline alkaloids from *Coptis chinensis* Franch: Focus on coptisine as a potential therapeutic candidate against gastric cancer cells // International Journal of Molecular Sciences. 2022. Vol. 23, no. 18. 10330. <https://doi.org/10.3390/ijms231810330>.
16. Colombo M.L., Bosisio E. Pharmacological activities of *Chelidonium majus* L. (Papaveraceae) // Pharmacological Research. 1996. Vol. 33, no. 2. Pp. 127–134. <https://doi.org/10.1006/phrs.1996.0019>.
17. Xu N., Bao W., Xin J., Xiao H., Yu J., Xu L. A new 1,3-Benzodioxole compound from *Hypecoum erectum* and its antioxidant activity // Molecules. 2022. Vol. 27, no. 19. 6657. <https://doi.org/10.3390/molecules27196657>.
18. Hu Y., Wang L., Xiang L., Wu J., Huang W., Xu C., Meng X., Wang P. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling for coptisine challenge of inflammation in LPS-stimulated rats // Scientific Reports. 2019. Vol. 9, no. 1. Pp. 1450–1462. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38164-4>.
19. Wu J., Luo Y., Deng D., Su S., Li S., Xiang L., Hu Y., Wang P., Meng X. Coptisine from *Coptis chinensis* exerts diverse beneficial properties: A concise review // Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2019. Vol. 23, no. 12. Pp. 7946–7960. <https://doi.org/10.1111/jcem.14725>.
20. Kim S.Y., Hwangbo H., Lee H., Park C., Kim G.Y., Moon S.K., Yun S.J., Kim W.J., Cheong J., Choi Y.H. Induction of apoptosis by coptisine in Hep3B hepatocellular carcinoma cells through activation of the ROS-mediated JNK signaling pathway // International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21, no. 15. 5502. <https://doi.org/10.3390/ijms21155502>.
21. Friedemann T., Schumacher U., Tao Y., Leung A.K., Schröder S. Neuroprotective activity of coptisine from *Coptis chinensis* (Franch) // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2015. Vol. 2015. Pp. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/827308>.
22. Kong W.J., Zhao Y.L., Xiao X.H., Li Z.L., Jin C., Li H.B. Investigation of the anti-fungal activity of coptisine on *Candida albicans* growth by microcalorimetry combined with principal component analysis // Journal of Applied Microbiology. 2009. Vol. 107, no. 4. Pp. 1072–1080. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04292.x>.
23. He K., Ye X., Wu H., Wang Y., Zou Z., Ning N., Hu Y., Chen B., Fang X., Li X. The safety and anti-hypercholesterolemic effect of coptisine in Syrian golden hamsters // Lipids. 2015. Vol. 50, no. 2. Pp. 185–194. <https://doi.org/10.1007/s11745-014-3983-7>.

Поступила в редакцию 22 апреля 2024 г.

После переработки 25 декабря 2024 г.

Принята к публикации 13 мая 2025 г.

*Toporkova V.I.<sup>1</sup>, Whaley A.O.<sup>1</sup>, Whaley A.K.<sup>1\*</sup>, Goncharov M.Yu.<sup>1</sup>, Gulina E.I.<sup>2</sup>, Luzhanin V.G.<sup>3</sup>, Belousov M.V.<sup>2</sup>*  
**QUANTITATIVE DETERMINATION OF COPTISINE IN THE HERB OF *CORYDALIS BRACTEATA* THROUGH HPLC ANALYSIS**

<sup>1</sup> Saint Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, Professora Popova st., 14, Saint Petersburg, 197376, Russia, andrey.ueyli@pharminnotech.com

<sup>2</sup> Siberian State Medical University, Moskovsky tract, 2, Tomsk, 634050, Russia

<sup>3</sup> Perm State Pharmaceutical Academy, Ekaterininskaya st., 110, Perm, 614990, Russia

Coptisine belongs to the group of protoberberine alkaloids of the isoquinoline series and is found in large quantities in *Corydalis bracteata* aerial parts. According to the literature data, coptisine possesses antibacterial, anti-inflammatory, cardioprotective and antitumor effects, thus, a wide range of pharmacological activity necessitates the determination of its quantitative content in plant raw materials. Previously, the authors of the article developed a method for isolating coptisine from the aerial parts of *C. bracteata*, the aim of this study is to develop a method for the quantitative determination of coptisine in *C. bracteata* and the selection of optimal extraction conditions. As a result of the quantitative determination of coptisine in the *C. bracteata* aerial part, it was found, that, the maximum yield of coptisine from raw materials, when extracted under optimal conditions, is 2.59%, while the maximum content of coptisine is contained in the plants leaves and is 3.97%. As a result of the research, validation of the quantitative analysis of coptisine using HPLC was carried out. There is no information in the literature about the method of quantitative determination of coptisine, which makes this study novel.

**Keywords:** coptisine, *Corydalis bracteata*, alkaloid, quantitative determination, HPLC.

**For citing:** Toporkova V.I., Whaley A.O., Whaley A.K., Goncharov M.U., Gulina E.I., Luzhanin V.G., Belousov M.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2025, no. 2, pp. 277–285. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250215112>.

### References

1. Deng A.P., Zhang Y., Zhou L., Kang C.Z., Lv C.G., Kang L.P., Nan T.G., Zhan Z.L., Guo L.P., Huang L.Q. *Phytochemistry*, 2021, vol. 183, 112644. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112644>.
2. Khodorova N.V., Shavarda A.L., Lequart-Pillon M., Laberche J.C., Voitsekhovskaja O.V., Boitel-Conti M. *Phytochemistry*, 2013, vol. 92, pp. 60–70. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.04.008>.
3. Whaley A.O., Whaley A.K., Toporkova V., Fock E., Rukoyatkina N., Smirnov S.N., Satimov G.B., Abduraxmanov B.A., Gambaryan S. *Fitoterapia*, 2023, vol. 171, 105697. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105697>.
4. Toporkova V.I., Ponkratova A.O., Ueyli A.K., Luzhanin V.G., Goncharov M.Yu. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertiz sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornyye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv*. 2022, vol. 12, no. 1, pp. 56–64. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-1-56-64>. (in Russ.).
5. Da-Cunha E.V., Fechine I.M., Guedes D.N., Barbosa-Filho J.M., Da Silva M.S. *The Alkaloids: Chemistry and Biology*, 2005, vol. 62, pp. 1–75. [https://doi.org/10.1016/s1099-4831\(05\)62001-9](https://doi.org/10.1016/s1099-4831(05)62001-9).
6. Grycová L., Dostál J., Marek R. *Phytochemistry*, 2007, vol. 68, no. 2, pp. 150–175. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.10.004>.
7. Sharma D., Sharma N., Manchanda N., Prasad S.K., Sharma P.C., Thakur V.K., Rahman M.M., Dhobi M. *Biomolecules*, 2022, vol. 13, no. 1, 17. <https://doi.org/10.3390/biom13010017>.
8. Zhong F., Chen Y., Chen J., Liao H., Li Y., Ma Y. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, vol. 12, 783127. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.783127>.
9. Lee J., Sohn E.J., Yoon S.W., Kim C.G., Lee S., Kim J.Y., Baek N., Kim S.H. *Phytotherapy Research*, 2017, vol. 31, no. 3, pp. 441–448. <https://doi.org/10.1002/ptr.5766>.
10. Grabarska A., Wróblewska-Łuczka P., Kukula-Koch W., Łuszczki J.J., Kalpoutzakis E., Adamczuk G., Skaltsounis A.L., Stepulak A. *Molecules*, 2021, vol. 26, no. 20, 6253. <https://doi.org/10.3390/molecules26206253>.
11. Ren L., Xue X., Zhang F., Xu Q., Liang X. *Journal of Separation Science*, 2007, vol. 30, no. 6, pp. 833–842. <https://doi.org/10.1002/jssc.200600246>.
12. Tong S., Yan J., Lou J. *Journal of liquid chromatography & related technologies*, 2005, vol. 28, no. 18, pp. 2979–2989. <https://doi.org/10.1080/10826070500274638>.
13. Wu W., Song F., Yan C., Liu Z., Liu S. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2005, vol. 37, no. 3, pp. 437–446. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2004.11.026>.
14. Wei X., Shen H., Wang L., Meng Q., Liu W. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2016, vol. 2016, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/9752735>.
15. Nakonieczna S., Grabarska A., Gawel K., Wróblewska-Łuczka P., Czerwonka A., Stepulak A., Kukula-Koch W. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, vol. 23, no. 18, 10330. <https://doi.org/10.3390/ijms231810330>.
16. Colombo M.L., Bosisio E. *Pharmacological Research*, 1996, vol. 33, no. 2, pp. 127–134. <https://doi.org/10.1006/phrs.1996.0019>.
17. Xu N., Bao W., Xin J., Xiao H., Yu J., Xu L. *Molecules*, 2022, vol. 27, no. 19, 6657. <https://doi.org/10.3390/molecules27196657>.
18. Hu Y., Wang L., Xiang L., Wu J., Huang W., Xu C., Meng X., Wang P. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling for coptisine challenge of inflammation in LPS-stimulated rats // *Scientific Reports*. 2019, vol. 9, no. 1, pp. 1450–1462. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38164-4>.

\* Corresponding author.

19. Wu J., Luo Y., Deng D., Su S., Li S., Xiang L., Hu Y., Wang P., Meng X. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2019, vol. 23, no. 12, pp. 7946–7960. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14725>.
20. Kim S.Y., Hwangbo H., Lee H., Park C., Kim G.Y., Moon S.K., Yun S.J., Kim W.J., Cheong J., Choi Y.H. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, no. 15, 5502. <https://doi.org/10.3390/ijms21155502>.
21. Friedemann T., Schumacher U., Tao Y., Leung A.K., Schröder S. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, vol. 2015, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/827308>.
22. Kong W.J., Zhao Y.L., Xiao X.H., Li Z.L., Jin C., Li H.B. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, vol. 107, no. 4, pp. 1072–1080. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04292.x>.
23. He K., Ye X., Wu H., Wang Y., Zou Z., Ning N., Hu Y., Chen B., Fang X., Li X. *Lipids*, 2015, vol. 50, no. 2, pp. 185–194. <https://doi.org/10.1007/s11745-014-3983-7>.

*Received April 22, 2024*

*Revised December 25, 2024*

*Accepted May 13, 2025*

### Сведения об авторах

*Топоркова Валерия Игоревна* – аспирант,  
toporkova.valeriya@pharminnotech.com

*Уэйли Анастасия Олеговна* – кандидат  
фармацевтических наук, младший научный сотрудник  
кафедры фармакогнозии, nasty.ponkratova@spcpu.ru

*Уэйли Андрей Кеннет* – кандидат фармацевтических  
наук, и.о. заведующего кафедрой фармакогнозии,  
andrey.ueyli@pharminnotech.com

*Гончаров Михаил Юрьевич* – доктор биологических  
наук, доцент, доцент кафедры фармакогнозии,  
mikhail.goncharov@pharminnotech.com

*Лужанин Владимир Геннадьевич* – доктор  
фармацевтических наук, доцент, ректор, заведующий  
кафедрой ботаники и фармацевтической биологии,  
vladimir.luzhanin@pharminnotech.com

*Гулина Екатерина Игоревна* – кандидат  
фармацевтических наук, доцент кафедры  
фармацевтического анализа, e.gulina1@gmail.com

*Белоусов Михаил Валерьевич* – доктор  
фармацевтических наук, профессор, заведующий  
кафедрой фармацевтического анализа, mvb63@mail.ru

### Information about authors

*Toporkova Valeriya Igorevna* – postgraduate student,  
toporkova.valeriya@pharminnotech.com

*Whaley Anastasiya Olegovna* – candidate of pharmaceutical  
sciences, junior research fellow of the Department of  
Pharmacognosy, nasty.ponkratova@spcpu.ru

*Whaley Andrey Kenneth* – candidate of pharmaceutical  
sciences, acting Head of the Department of Pharmacognosy,  
andrey.ueyli@pharminnotech.com

*Goncharov Mihail Yur'evich* – Doctor of Biological  
Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the  
Department of Pharmacognosy,  
mikhail.goncharov@pharminnotech.com

*Luzhanin Vladimir Gennad'evich* – Doctor of  
Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Rector, Head  
of the Department of Botany and Pharmaceutical Biology,  
vladimir.luzhanin@pharminnotech.com

*Gulina Ekaterina Igorevna* – Candidate of Pharmaceutical  
Sciences, Associate Professor of the Department of  
Pharmaceutical Analysis, e.gulina1@gmail.com

*Belousov Mihail Valer'evich* – Doctor of Pharmaceutical  
Sciences, Professor, Head of the Department of  
Pharmaceutical Analysis, mvb63@mail.ru