

ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ ПОЧЕК И ЛИСТЬЕВ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ МЕТОДОМ ВЭЖХ

Т.С. Попова, Д.М. Попов, докт. фарм. наук, Н.С. Терёшина*, докт. фарм. наук
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова;
119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

*E-mail: teryoshinan@mail.ru

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) проведено сравнительное изучение качественного состава флавоноидов почек и листьев черной смородины – *Ribes nigrum* L. Из почек выделено и идентифицировано 4 флавоноида, из них 2 производных кверцетина и 2 производных мирицетина: кверцетин-3-О-(6-О-малонил-β-D-глюкопиранозид), кверцетин-3-О-D-галактопиранозид (гиперозид), мирицетин-3-О-(6-О-малоноил-β-D-глюкопиранозид), мирицетин-3-О-β-D-глюкуронид. В листьях черной смородины содержится 2 производных кверцетина и 2 производных кемпферола: кверцетин-3-О-(6-О-малонил-β-D-глюкопиранозид), кверцетин-3-О-D-галактопиранозид (гиперозид), кемферол-3-О-(6-О-малоноил-β-D-глюкопиранозид), кемферол-3-О-D-галактопиранозид.

Ключевые слова. смородина черная, *Ribes nigrum* L., почки, листья, флавоноиды, ВЭЖХ.

В медицине широко используется черная смородина (*Ribes nigrum* L.) семейства крыжовниковые (*Grossulariaceae*), произрастающая в Европе, Азии, Северной Америке. В России дико-растущая черная смородина распространена в Европейской части России, на Кавказе, в Сибири. Лекарственным растительным сырьем (ЛРС) в аллопатии служат плоды смородины. Листья и почки, проявляющие противовоспалительное и диуретическое действие, применяются в гомеопатической практике и народной медицине. В гомеопатии препараты из почек черной смородины назначают при заболеваниях надпочечников; они усиливают сопротивляемость стрессу, проявляют иммуностимулирующее действие и способствуют дренированию лимфы. В народной медицине листья применяются при лечении почечнокаменной болезни, подагры, цистита, уретрита, остеохондроза, ревматизма, мышечных и суставных болей, экссудативного диатеза, экземы и фурункулеза [2, 3, 6, 8, 9].

Листья черной смородины содержат эфирное масло, катехины и флавоноиды – производные изорамнетина, мирицетина, кемпферола и кверцетина [1, 4, 5, 7, 8, 10, 11]. В качестве ЛРС для получения препаратов наряду с листьями используются почки.

Поэтому представляет интерес сравнительное изучение химического состава биологически активных соединений в данных видах сырья.

Цель данного исследования – сравнительное изучение флавоноидов листьев и почек черной смородины методом ВЭЖХ.

Экспериментальная часть

Объектами исследования служили высушенные почки и листья черной смородины, собранные в Московской области от культивируемых растений.

Извлечение для определения флавоноидов в сырье получали по следующей методике: 4 г высушенных почек (или листьев), измельченных до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм, помещали в круглодонную колбу вместимостью 250 мл, прибавляли 60 мл 70% спирта этилового, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 45 мин. После охлаждения извлечение фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы сырье не попало на фильтр. В круглодонную колбу со штифтом вносили 40 мл 70% спирта этилового и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 15 мин. После охлаждения извлечение фильтровали через тот же фильтр в ту же мерную колбу. Колбу и осадок на фильтре промывали 5 мл спирта и доводили объем раствора до метки.

ГРАДИЕНТНЫЙ РЕЖИМ ХРОМАТОГРАФИРОВАНИЯ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ И ПОЧКАХ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ

Время, мин	Подвижная фаза А, %	Подвижная фаза В, %
0	95	5
3,0	60	40
3,1	95	5

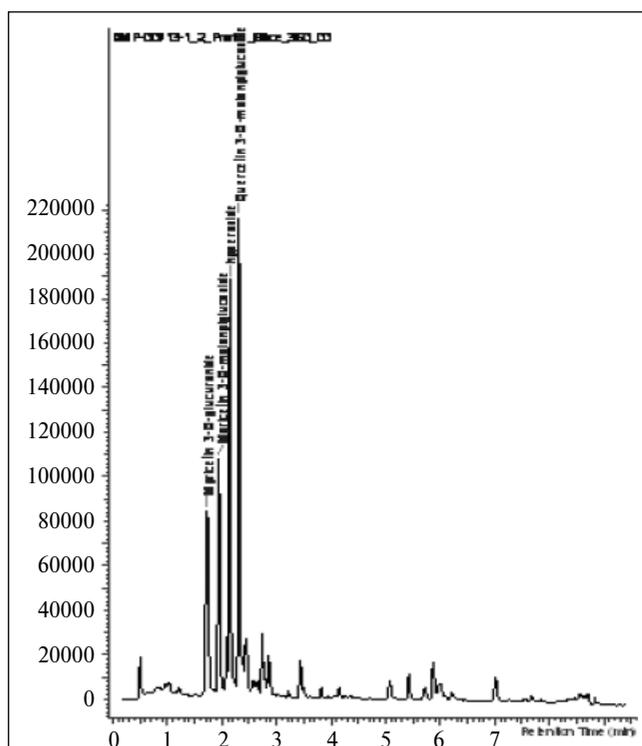


Рис. 1. ВЭЖХ флавоноидов в извлечении из почек черной смородины

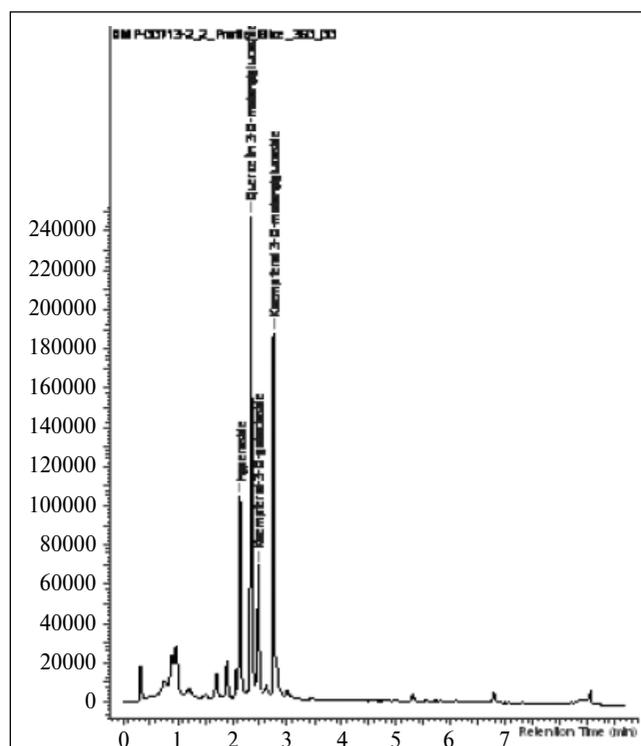


Рис. 2. ВЭЖХ флавоноидов в извлечении из листьев черной смородины

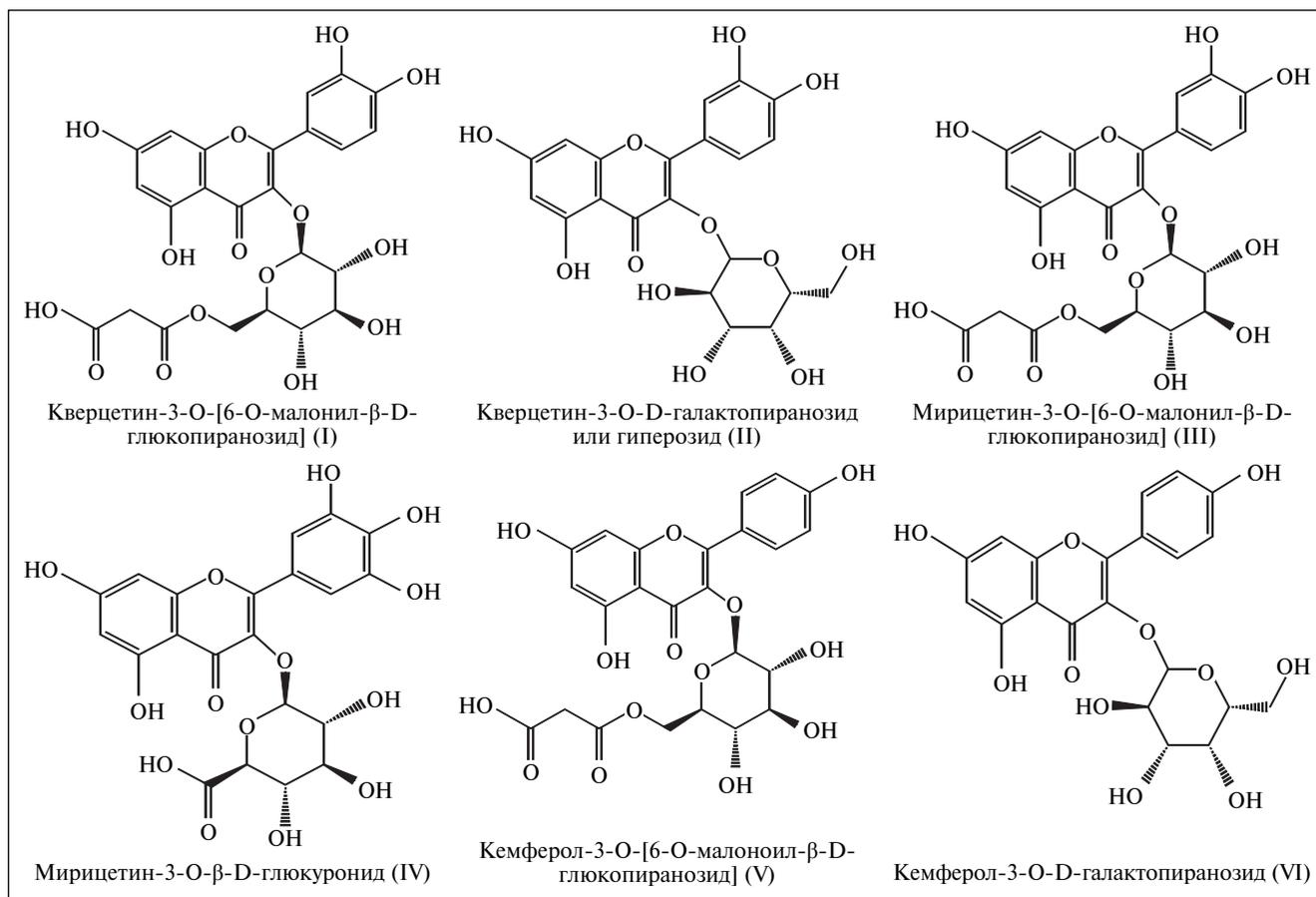


Рис. 3. Возможные структурные формулы флавоноидов, выделенных из почек и листьев черной смородины

Вывод

Почки и листья черной смородины имеют разный качественный состав флавоноидов, что должно учитываться при получении лекарственных препаратов из данных видов сырья.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

1. Патудин А.В., Терёшина Н.С., Мищенко В.С., Ильенко Л.И. Биологически активные вещества гомеопатического лекарственного сырья. М.: Знак. 2009; 588. (Patudin A.V., Teryoshina N.S., Mishchenko V.S., Ilyenko L.I. Biologically active substances of homeopathic medicinal raw materials. Moscow: Znak. 2009; 588) (in Russian).
2. Garbacki N., Angenot L., Bassleer C. et al. Effects of prodelphinidins isolated from *Ribes nigrum* on chondrocyte metabolism and COX activity. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2002; 365 (6): 434–441.
3. Chanh P.H., Ifansyah N., Chahine R. et al. Comparative effects of total flavonoids extracted from *Ribes nigrum* leaves, rutin and isoquercitrin on biosynthesis and release of prostaglandins in the ex vivo rabbit heart. *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine.* 1986; 22 (3): 295–300.
4. Fleurentin J., Pelt J.-M., Mazars G. Des sources du savoir aux médicaments du futur. *Société française d'ethnopharmacologie, Institut européen d'écologie, Société européenne d'ethnopharmacologie.* IRD Editions, 2002: 468.
5. Le Quere, J.L., Latrasse A. Composition of the essential oils of blackcurrant buds (*Ribes nigrum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 1990; 38: 3–10.
6. Mongold J.J., Susplugas P. et al. Anti-inflammatory activity of *Ribes nigrum* leaf extract in rats. *Plantes Medicinales et Phytotherapie.* 1993; 26 (2): 109–116.
7. Pieri G., Baghdikian B., Elias R. et al. Flavonoids from the leaves of *Ribes nigrum* L. identification of a malonyl flavonol and HPLC analysis. Des sources du savoir aux médicaments du futur. Jacques Fleurentin, Jean-Marie Pelt, Guy Mazars, Société française d'ethnopharmacologie, Institut européen d'écologie, Société européenne d'ethnopharmacologie. IRD Editions. 2002: 422–425.
8. Garbacki N., Kinet M., Nussgens B. et al. Proanthocyanidins from *Ribes nigrum* leaves, reduce endothelial adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1. *Journal of Inflammation.* 2005; 2: 9.
9. *Ribes Nigrum Gemmotherapy by Unda. Homeopathy by Unda.* Режим доступа: <http://www.rockwellnutrition.com/ribes-nigrum-gemmotherapy-by-unda.html>.
10. He D., Huang Y., Ayupbek A. et al. Separation and Purification of Flavonoids from Black Currant Leaves by High-Speed Countercurrent Chromatography and Preparative HPLC. *J. Liq. Chromatogr Relat Technol.* 2010; 33 (5): 615–628.
11. Wichtl M., Anton R. *Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.* 2e éd., Paris. Éditions Tec & Doc. 2003: 692.

Поступила 10 марта 2014 г.

Качественный состав флавоноидов определяли методом ВЭЖХ на хроматографе Waters Acquility с тандемным квадрупольным МС-детектором TQD (Waters). Подвижная фаза А: смесь вода – ацетонитрил (95 : 5) с муравьиной кислотой. Подвижная фаза В: ацетонитрил с муравьиной кислотой. Хроматографировали испытуемый раствор в следующих условиях: объем пробы – 1 мкл; колонка 0,21×5,0 см Acquility UPLC VEN C18 (1,7 мкм); температура колонки – 35°C; скорость потока – 0,5 мл/мин; градиентный режим хроматографирования формируется путем смешивания подвижных фаз А и В по схеме, представленной в таблице; МС-детекция в режиме позитивных ионов; параметры детектора: напряжение на капилляре – 3 кВ; напряжение на конусе – 55 В; температура капилляра – 450°C; температура источника – 120°C; скорость потока осушающего газа – 800 л/ч, скорость потока газа в конусе 50 л/ч и сканирование в диапазоне масс – от 100 до 1000 ед.

В ходе исследования установлено, что в почках черной смородины содержатся 4 флавоноида, из них 2 производных кверцетина и 2 производных мирицетина: кверцетин-3-О-[6-О-малонил-β-D-глюкопиранозид] (I), кверцетин-3-О-D-галактопиранозид или гиперозид (II), мирицетин-3-О-[6-О-малоноил-β-D-глюкопиранозид] (III), мирицетин-3-О-β-D-глюкуронид (IV) – рис. 1.

В листьях черной смородины (рис. 2) содержатся 2 производных кверцетина и 2 производных кемпферола: кверцетин-3-О-[6-О-малонил-β-D-глюкопиранозид] (I), кверцетин-3-О-D-галактопиранозид или гиперозид (II), кемферол-3-О-[6-О-малоноил-β-D-глюкопиранозид] (V), кемферол-3-О-D-галактопиранозид (VI).

Флавоноиды, производные кверцетина, выделенные из почек и листьев черной смородины, по химическому строению совпадают (рис. 3).

HPLC INVESTIGATION OF FLAVONOIDS IN THE BLACKCURRANT (*RIBES NIGRUM* L.) BUDS AND LEAVES

T.S. Popova; D.M. Popov, PhD; N.S. Tereshina, PhD*

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991

SUMMARY

Blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) buds and leaves having anti-inflammatory and diuretic activities are used in homeopathy and folk medicine. The composition of flavonoids was comparatively examined in these types of the raw materials. HPLC established that the blackcurrant buds and leaves had a varying qualitative composition of flavonoids, which should be borne in mind when deriving medications from these types of the raw materials.

The buds of blackcurrant were used to isolate and identify 4 flavonoids, of them there were 2 quercetin derivatives (quercetin-3-O-(malonyl-β-D-glucopyranoside) and quercetin-3-O-D-galactopyranoside (hyperoside)) and 2 myricetin ones (myricetin-3-O-(6-O-malonyl-β-D-glucopyranoside) and myricetin-3-O-β-D-glucuronide). Its leaves were found to contain 2 quercetin derivatives (quercetin-3-O-(6-O-malonyl-β-D-glucopyranoside) and quercetin-3-O-D-galactopyranoside (hyperoside)) and 2 kaempferol ones (kaempferol-3-O-(6-O-malonyl-β-D-glucopyranoside) and kaempferol-3-O-D-galactopyranoside). The flavonoids, quercetin derivatives, isolated from blackcurrant buds and leaves are structurally similar.

Key words: blackcurrant (*Ribes nigrum* L.), buds, leaves, flavonoids, HPLC.