

Листья лимонника китайского: изучение лигнанов методом ВЭЖХ

Ю.В. Добрин, А.И. Сливкин

Воронежский государственный университет;

Российская Федерация, 394036, Воронеж, Университетская пл., д. 1

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Добрин Юлия Владимировна – ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии Воронежского государственного университета. *Тел.: +7 (950) 774-73-83. E-mail: dobrina@pharm.vsu.ru*

Сливкин Алексей Иванович – декан фармацевтического факультета Воронежского государственного университета, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, доктор фармацевтических наук, профессор. *Тел.: +7 (910) 243-67-88. E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru*

РЕЗЮМЕ

Введение. В медицине используют семена и плоды лимонника китайского для получения лекарственных препаратов, обладающих выраженным адаптогенным, тонизирующим, стимулирующим и общеукрепляющим действием. Методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) показано, что схожий состав лигнанов с семенами лимонника имеют листья лимонника китайского, используемые в народной медицине.

Цель исследования – изучение методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) лигнанов листьев лимонника китайского, заготовленных в Воронежской области.

Материал и методы. Объекты исследования – высушенные листья и плоды лимонника китайского, заготовленные в Воронежской области. Анализ лигнанов проводили на жидкостном хроматографе «Agilent 1260» с диодноматричным детектором по методике, адаптированной к анализу лигнанов.

Результаты. Содержание схизандрина А в листьях лимонника китайского практически такое же, как и в плодах (83,43 мг/мл) и остается на одном уровне независимо от фазы вегетации растения.

Заключение. Листья лимонника китайского можно рассматривать как дополнительный источник лигнанов.

Ключевые слова: лимонник китайский, *Schizandra chinensis* (Turcz.) Ball., листья, ВЭЖХ, лигнаны, схизандрин А.

Для цитирования: Добрин Ю.В., Сливкин А.И. Листья лимонника китайского: изучение лигнанов методом ВЭЖХ. Фармация, 2019; 68 (2): 24–27. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-02-04>

SCHISANDRA CHINENSIS LEAVES: THE STUDY OF LIGNANS USING HPLC

Iu.V. Dobrina, A.I. Slivkin

Voronezh State University; 1, Universitetskaia Sq., Voronezh 394036, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Dobrina Yulia Vladimirovna – assistant of the Department of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology of Voronezh state University. *Tel.: +7 (950) 774-73-83. E-mail: dobrina@pharm.vsu.ru*

Slivkin Alexey Ivanovich – Dean of the faculty of pharmacy of Voronezh state University, head of the Department of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor. *Tel.: +7 (910) 243-67-88. E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru*

SUMMARY

Introduction. In medicine, the seeds and fruits of Chinese Schizandra are used to produce drugs that have a pronounced adaptogenic, antifatigue, stimulating and general tonic effect. Thin layer chromatography (TLC) showed that leaves of Schizandra Chinese used in traditional medicine have a similar composition of lignans with Schizandra Chinese seeds.

Objective: HPLC study of lignans of Chinese Schizandra leaves harvested in the Voronezh Region.

Materials and methods. Study subjects are dried leaves and fruits of Chinese Schizandra harvested in the Voronezh region. The analysis of lignans was carried out on an «Agilent 1260» liquid chromatograph with a diode-matrix detector using the method adapted to the analysis of lignans.

Results. The content of schizandrin A in the leaves of Chinese Schizandra is almost the same as in seeds (83.43 mg / ml) and remains at the same level regardless of the plant vegetation phase.

Conclusion. Leaves of Chinese Schizandra can be considered as an additional source of lignans.

Key words: Chinese Schizandra, *Schizandra chinensis* (Turcz.) Ball., leaves, HPLC, lignans, schizandrin A.

For citation: Dobrina Iu.V., Slivkin A.I. Schizandra chinensis leaves: the study of lignans using HPLC. Farmatsiya (Pharmacy), 2019; 68 (2): 24–27. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-02-04>

Введение

Род *Schizandra* Michx. – лимонник сем. лимонниковых (Schisandraceae) объединяет всего 2 рода, включающих 47 видов вечнозеленых или листопадных, вьющихся или лазящих кустарников, распространенных по всему миру. На территории России произрастает и разрешен к медицинскому применению только 1 вид этого семейства – лимонник китайский

Лимонник китайский – *Schizandra chinensis* (Turcz.) Ball. – листопадная двудомная лиана, произрастающая на Дальнем Востоке, является достаточно хорошо изученным лекарственным растением. В официальной медицине используют семена и высушенные плоды лимонника для получения лекарственных препаратов, обладающих выраженным адаптогенным, тонизирующим, стимулирующим и общеукрепляющим действием. В народной медицине используются все части растения, включая кору корней и стебли [1-4].

Ведущая группа биологически активных соединений (БАС) лимонника – лигнаны – производные дибензо-[α,с]-циклооктадиена: схизандрол А (схизандрин), схизандрин А (дезоксисхизандрин), γ-схизандрин и др. Они были выделены в нашей стране из плодов и семян лимонника в 60-х годах XX века. Позднее из плодов лимонника китайского японские ученые выделили 5 новых лигнанов – гомизины А, В, С, F и G, и определили пространственные структуры схизандрина и γ-схизандрина. Содержание суммы лигнанов в плодах и семенах лимонника составляло от 2 до 4% соответственно [5–8].

В зависимости от условий произрастания и сезона основными лигнанами лимонника китайского являются схизандрин (2–9%), γ-схизандрин (1–5%), дезоксисхизандрин (0,2–1,1%) и схизандрол В (0,7–3,0%) [6].

Методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) было показано, что схожий состав лигнанов с семенами лимонника имеют листья лимонника китайского [9]. Одним из наиболее рациональных методов, используемых для изучения сырья, содержащего лигнаны, является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [6, 10].

Цель исследования – анализ лигнанов листьев лимонника китайского, заготовленных в Воронежской области, методом ВЭЖХ.

Материал и методы

Объектами исследования служили высушенные листья и плоды лимонника китайского, интродуцированного в Воронежской области. Листья заготавливали в разные фазы жизни растения (отрастание листьев, цветение, плодоношение). Плоды собирали осенью в период полного созревания.

Исследование лигнанов проводили методом ВЭЖХ в системе, состоящей из жидкостного хроматографа «Agilent 1260» с диодноматричным детектором и системы для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation [11] по методике, адаптированной к анализу листьев лимонника.

На этапе пробоподготовки из исследуемого сырья получали спиртовые извлечения (при соотношении сырье – экстрагент 1:10; экстрагент – спирт этиловый 90%). Для дополнительной очистки анализируемые образцы спиртовых извлечений из сырья подвергали центрифугированию и затем пропускали через мембранный фильтр (Agilent, Nylon 0,45 μm) с диаметром пор 0,45 мкм. Далее, в зависимости от состояния образца, его разбавляли ацетонитрилом. Раствором сравнения при анализе служил спиртовой раствор схизандрина А («Sigma»).

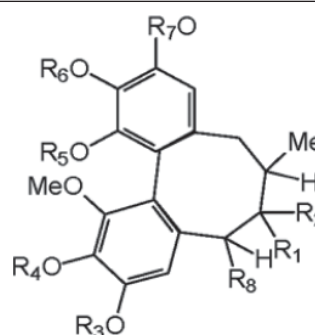


Рис. 1. Общая формула лигнанов лимонника китайского
Fig. 1. General formula of *Schizandra chinensis* Benth lignans

Условия ВЭЖХ-анализа: колонка Zorbax Extend-C18 (Rapid Resolution HT 2,1×50 мм; 1,8 мкм) в комплексе Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, CA). Подвижная фаза – ацетонитрил

(А) – вода (В) + 0,1% муравьиной кислоты. Градиентное смешение растворителей. Начало – 50% (А) в течение 0,5 мин, затем, 50–95% (А) за 6,5 мин, и ещё 1,5–2 мин при 95% (А). Температура термоста

тата колонок – 25°C. Объем ижектируемой пробы – 0,5 мкл. Скорость – 0,4 мл/мин. Элюат вводили непосредственно в ESI-MS детектор Agilent 6230 TOF LC/MS (время пролетное, ионизация – электроспрей). Запись и регистрацию сигналов проводили в положительной полярности; небулайзер (N₂) 20 psig; газ-осушитель (N₂), 6 мл/мин, 320°C; шкала определяемых масс 50–3200 m/z. Напряжение на капилляре – 4000 В; фрагментор +191 В, скиммер +66 В, OctRF 750 В.

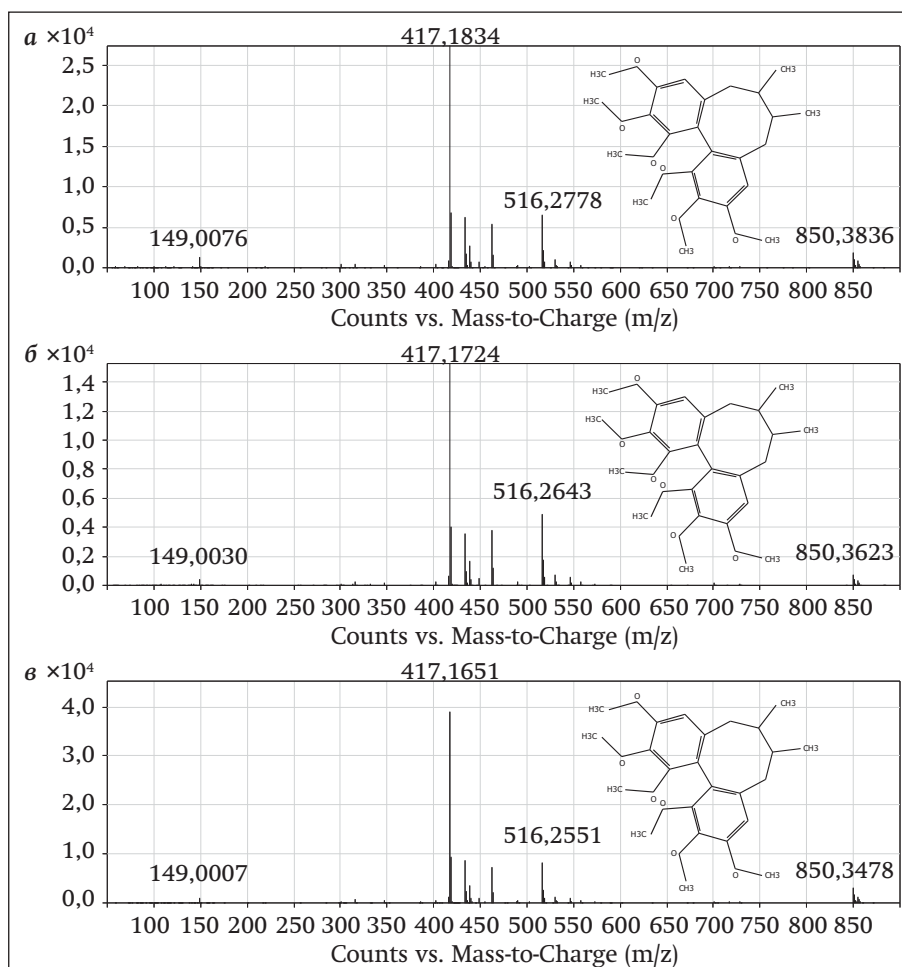


Рис. 2. Хроматограммы извлечений из листьев лимонника китайского, заготовленных в разные фазы вегетации: а – отращание листьев; б – цветение; в – плодоношение

Fig. 2. Chromatograms of extracts from *Schirandra chinensis* leaves harvested in different phases of the growing season: а – leaves growing; б – blossoming; в – fructification

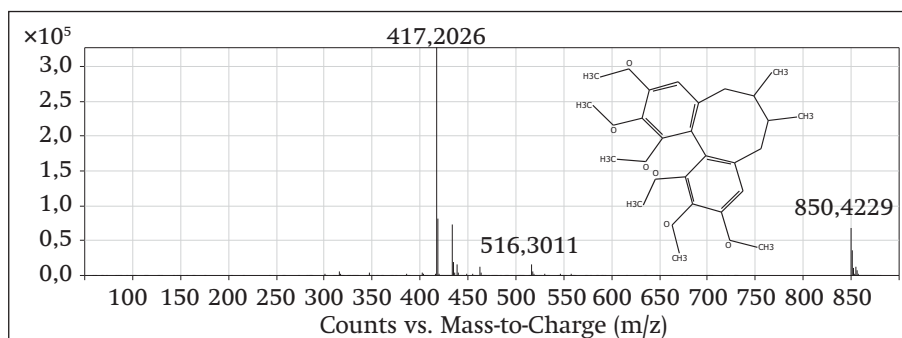


Рис. 3. Хроматограмма извлечений из плодов лимонника китайского

Fig. 3. Chromatogram of extracts from the *Schirandra chinensis* fruits

Результаты и обсуждение

Полученные хроматограммы извлечений из листьев лимонника анализировали путем сопоставления времен удерживания пиков веществ на хроматограммах анализируемых образцов со временем удерживания пика стандартного образца схизандрин А. Установлено, что в листьях лимонника на всех этапах вегетации содержится схизандрин А (рис. 2, 3).

Содержание схизандрина А в листьях лимонника китайского практически такое же, как и в плодах (83,43 мг/мл), причем оно остается на одном уровне независимо от фазы вегетации растения (см. таблицу).

Заключение

Методом ВЭЖХ в листьях лимонника китайского установлено присутствие основного лигнана – схизандрина А. Его содержание находится на одном уровне с содержанием в плодах и практически

Содержание схизандрина А в листьях и плодах лимонника китайского

The content of schizandrin A in the leaves and fruits of *Schirandra chinensis*

Образец	Площадь пика, усл. ед.	Итоговая концентрация, %	Содержание схизандрина А в исследуемых объектах, мг/мл
Плоды	9466265	0,0899	83,44
Листья:			
весна	1272563	0,0242	83,43
лето	924660	0,0176	83,43
осень	1705271	0,0324	83,43

не меняется в течение вегетационного периода. Полученные результаты позволяют рассматривать листья лимонника китайского в качестве дополнительного источника лигнанов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Литература

1. Колбасина Э.И. и др. Лимонник китайский *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. Исследования генофонда растений. М.: РАСХН, 1999; 161–201.
2. Zhao B.L., Li X.Y., Liu G.T. Scavenging effect of schizandrins on active oxygen radicals. *Cell Biol. Int. Rep.*, 1990; 14 (2): 99–102.
3. Chiu P.Y., Mak D. H., Poon M. K., Ko K. M. *In vivo* antioxidant action of a lignan-enriched extract of Schisandra fruit and an anthraquinone-containing extract of Polygonum root in comparison with schisandrin B and emodin. *Planta Med.*, 2002; 68: 951–6. <https://doi.org/10.1055/s-2002-35661>.
4. Chen Q., Zhan Q., Li Y. et al. Schisandra lignan extract protects against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice by inhibiting oxidative stress and regulating the NF-κB and JNK signaling pathways. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 2017; 5:140–297. <https://doi.org/10.1155/2017/5140297>.
5. Кротова И.В., Ефремов А.А. Исследование химического состава плодов лимонника китайского. *Химия растительного сырья*, 1999; 4: 131–3.
6. Сатдарова Ф.Ш., Куркин В.А. Лигнаны CO₂-экстракта плодов лимонника китайского. *Химия растительного сырья*, 2008; 3: 59–64.
7. Косман В.М., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Макаров В.Г. Лигнаны масляного экстракта семян лимонника китайского *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. *Химия растительного сырья*, 2014; 4: 131–8.
8. Жукович Е.Н. и др. К исследованию биологически активных лигнанов настойки и семян лимонника китайского. *Химико-фармацевтический журнал*, 2007; 41 (2): 35–7.
9. Мальцева А.А., Тамилина И.А., Недосекова М.А. и др. Изучение лигнанов в листьях лимонника методом ТСХ. *Вестник Воронежского государственного института. Серия: Химия. Биология. Фармация*, 2015; 1: 147–51.

10. Сатдарова Ф.Ш., Куркин В.А. и др. ВЭЖХ как метод стандартизации сырья и препаратов лимонника китайского. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*, 2011; (8): 17–25.

11. Актаев Е.К., Шертаева Н.Т., Садуакас Э.А., Рахмадиева С.Б. Определение флавоноидов и алкалоидов в *Asplenium septentrionale* (L.) Hoffm. методом ВЭЖХ. *Химические науки*, 2016; 3: 241–2.

References

1. Kolbasina E.I. et al. Chinese Schisandra *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. Plant gene pool studies. Moscow: RASKhN, 1999; 161–201 (in Russian).
2. Zhao B.L., Li X.Y., Liu G.T. Scavenging effect of schizandrins on active oxygen radicals. *Cell Biol. Int. Rep.*, 1990; 14 (2): 99–102.
3. Chiu P.Y., Mak D. H., Poon M. K., Ko K. M. *In vivo* antioxidant action of a lignan-enriched extract of Schisandra fruit and an anthraquinone-containing extract of Polygonum root in comparison with schisandrin B and emodin. *Planta Med.*, 2002; 68: 951–956. <https://doi.org/10.1055/s-2002-35661>.
4. Chen Q., Zhan Q., Li Y. et al. Schisandra lignan extract protects against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice by inhibiting oxidative stress and regulating the NF-κB and JNK signaling pathways. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 2017; 5:140–297. <https://doi.org/10.1155/2017/5140297>.
5. Krotova I.V., Efremov A.A. The study of the chemical composition of the fruit of Chinese Schisandra. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 1999; 4: 131–3 (in Russian).
6. Satdarova F.Sh., Kurkin V.A. Lignans of CO₂-extract of Chinese Schisandra fruit. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2008; 3: 59–64 (in Russian).
7. Kosman V.M., Pozharitskaya O.N., Shikov A.N., Makarov V.G. Lignans oil extract of Chinese Schisandra *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2014; 4: 131–8 (in Russian).
8. Zhukovich E.N. et al. To the study of biologically active lignans tincture and seeds of Chinese Schisandra. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2007; 41 (2): 35–7 (in Russian).
9. Maltseva A.A., TAMILINA I.A., Nedosekova M.A. et al. Study of lignans in Schisandra leaves by TLC. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo instituta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, 2015; 1: 147–151 (in Russian).
10. Satdarova F.Sh., Kurkin V.A. et al. HPLC as a method of standardization of raw materials and preparations of Chinese Schisandra. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2011; (8): 17–25 (in Russian).
11. Aktaev E.K., Shertaeva N.T., Saduakas E.A., Rakhmadiyeva S.B. Determination of flavonoids and alkaloids in *Asplenium septentrionale* (L.) Hoffm. by HPLC. *Khimicheskiye nauki*, 2016; 3: 241–2 (in Russian).

Поступила 21 августа 2018 г.

Received 21 August 2018

Принята к публикации 14 декабря 2018 г.

Accepted 14 December 2018