

А. В. Мягчилов^{1,2,*}, С. А. Минеев¹, Л. И. Соколова¹,
Е. Д. Гердасова¹, П. Г. Горовой²

СОДЕРЖАНИЕ АРБУТИНА В ДАЛЬНЕВОСТОЧНОМ ВИДЕ *SERRATULA KOMAROVII* ILJIN

¹ ФГАОУ ВО "Дальневосточный федеральный университет", Россия, 690950, Владивосток.

² ФГБУН "Тихоокеанский институт биоорганической химии имени Г. Б. Елякова ДВО РАН", 690922, Владивосток.

* e-mail: DFDFDF47@yandex.ru

Из листьев *Serratula komarovii* Iljin, произрастающей в Приморском крае, методом жидкостной экстракции (70 % этиловым спиртом) и препаративной колоночной хроматографией с использованием силикагеля (L 230 – 400 меш) в режиме градиентного элюирования смесью растворителей (четырёххлористого углерода и этилового спирта) впервые выделено биологически активное соединение — арбутин (β -D-глюкопиранозид гидрохинона). Идентификацию выделенного соединения проводили методами ЯМР-, ИК-спектроскопии. Содержание арбутина в надземных органах (листья, стебли) *Serratula komarovii* определяли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ). Массовая доля арбутина в листьях составляет $(3,31 \pm 0,30)$ % и стеблях $(0,49 \pm 0,09)$ %. В надземных органах (листья, стебли) *Serratula manshurica* Kitag. это соединение не обнаружено.

Ключевые слова: арбутин; *Serratula komarovii*; *Serratula manshurica*; листья; стебли; хроматография.

Арбутин обладает антиоксидантной, диуретической и антимикробной активностью [1 – 7]. Основными источниками арбутина являются представители видов *Arctostaphylos uva-ursi* L., *Vaccinium vitis-idaea* L. (семейство Ericaceae), которые применяются для лечения заболеваний мочевыделительной системы: урифлорин, бруснивер, бруснивер-Т. Вид *Serratula quinquefolia* Bied. ex Willd., произрастающий на Северном Кавказе, а также другие виды *Serratula* (*S. gmelinii* Tausch., *S. sogdiana* Bunge, *S. radiata* (Waldst. et Kit.) Bieb., *S. erucifolia* (L.) Boriss.) до настоящего времени не рассматривают в качестве источников арбутина [8 – 12]. На Дальнем Востоке России из рода *Serratula* широко распространены серпуха Комарова (*Serratula komarovii* Iljin) и серпуха маньчжурская (*Serratula manshurica* Kitag.), потенциальные источники экидестероидов [13 – 15]. В *Serratula komarovii* и *Serratula manshurica* идентифицированы биологически активные соединения класса флавоноидов [16 – 19], что показывает их перспективность как возобновляемых источников экидестероидов, флавоноидов и арбутина.

Целью работы являлось определение содержания арбутина в видах рода *Serratula* L., произрастающих в Приморском крае на Дальнем Востоке России.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использовали листья и стебли *Serratula komarovii* и *Serratula manshurica*, собранных в Приморском крае (Ханкайский район, окрестности с. Комиссарово, август 2017 г., в фенофазу цветения). Сушка сырья проводилась при комнатной температуре. Высушенные листья и стебли измельчали до размеров частиц 1 – 2 см.

Выделение арбутина из листьев *Serratula komarovii*. Навеску листьев 20,0 г дважды экстрагиро-

вали 150 мл 70 % раствора этилового спирта на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 1,5 ч. Объединенный спиртовой экстракт листьев *Serratula komarovii* упаривали на роторном испарителе до водного остатка. Полученный остаток разбавляли дистиллированной водой и в делительной воронке последовательно обрабатывали четыреххлористым углеродом (для удаления хлорофилла). К сухому остатку добавляли 5 мл 96 % этилового спирта и смешивали с 10 г силикагеля (230 – 400 меш). Смесью экстракта и силикагеля сушили на воздухе при комнатной температуре и наносили на колонку с силикагелем Merck с фракцией 70 – 230 меш (высота слоя сорбента — 20 см, диаметр колонки — 5 см).

В качестве элюента использовали смесь четыреххлористого углерода с возрастающей концентрацией этилового спирта (от 0 до 100 %). При элюировании смесью $CCl_4:C_2H_5OH$ в соотношении 25:75 (об./об.) выделили белое кристаллическое вещество — арбутин, идентифицированное по данным ЯМР-, ИК-спектров.

ЯМР-спектры снимали на спектрофотометре фирмы Bruker (США) с рабочей частотой 400 МГц в CD_3OD .

ИК-спектры исследуемого соединения регистрировали на спектрофотометре Perkin Elmer Spectrum BX (США) в диапазоне $3500 - 800\text{ см}^{-1}$, разрешение — 4 см^{-1} , в таблетке KBr.

Выделение арбутина из *Serratula komarovii* для ВЭЖХ-анализа. Навески измельченных листьев и стеблей массой 2,00 г, количественно переносили в круглодонную колбу объемом 50 мл, добавляли 25 мл дистиллированной воды и дважды экстрагировали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 1,5 ч. Объединенные водные экстракты пере-

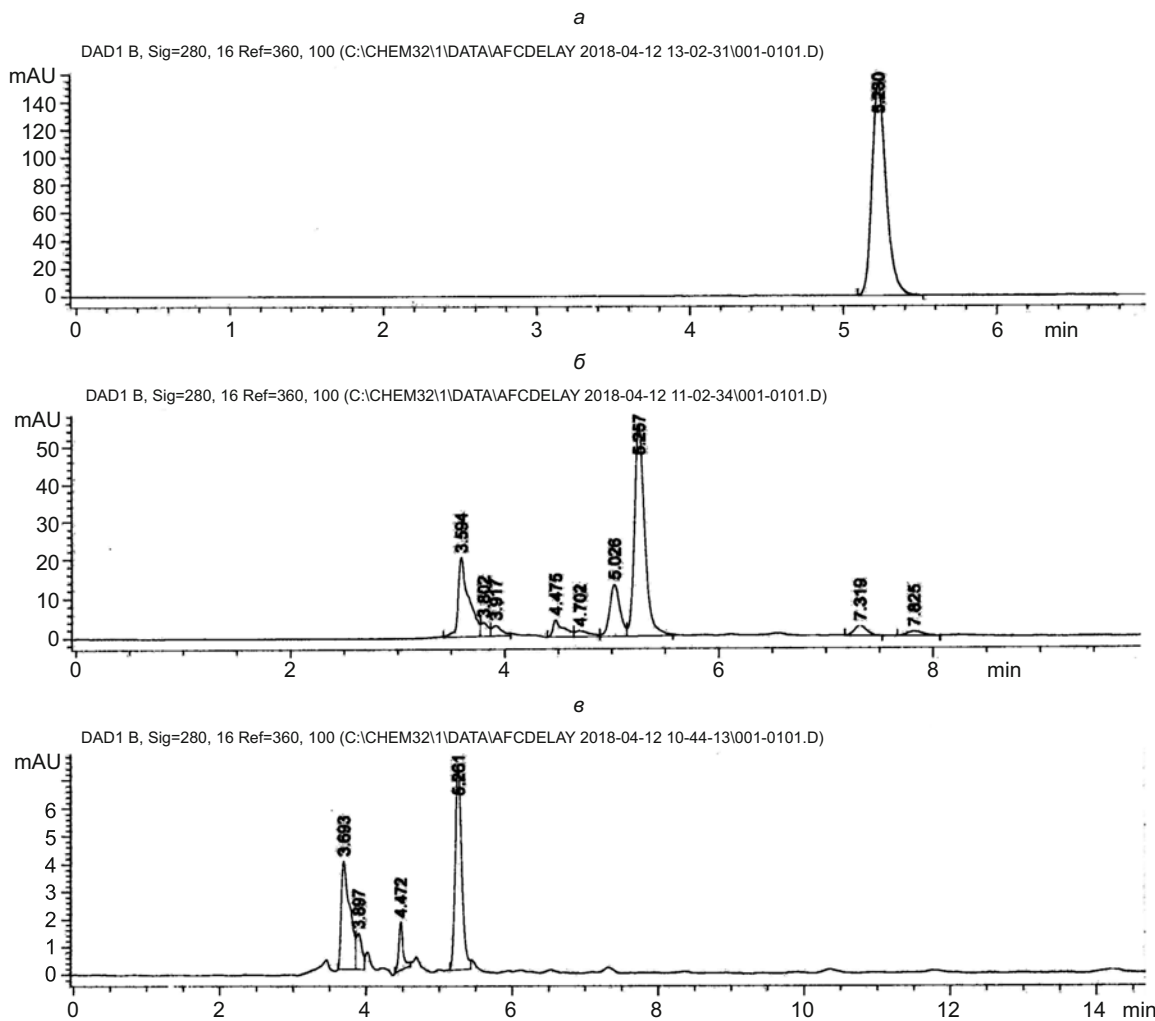


Рис. 1. Хроматограммы: а — стандартного раствора арбутина; б — экстракта листьев *Serratula komarovii*; в — экстракта стеблей *Serratula komarovii*.

носили в мерную колбу на 100 мл и доводили до метки дистиллированной водой [10].

ОФ ВЭЖХ-анализ проводили на жидкостном хроматографе Agilent Technologies Series 1200 (США), детектор – диодная матрица, рабочая длина волны 280 нм. Колонка Supelco “Discovery” C18 (4,6 × 250 мм, 5 мкм), температура термостата колонки 30 °С. В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрил — 1 % водный раствор уксусной кислоты 5:95 (об./об.). Скорость потока элюента — 0,8 мл/мин. Объем вводимой пробы в инжектор хроматографа — 5 мкл.

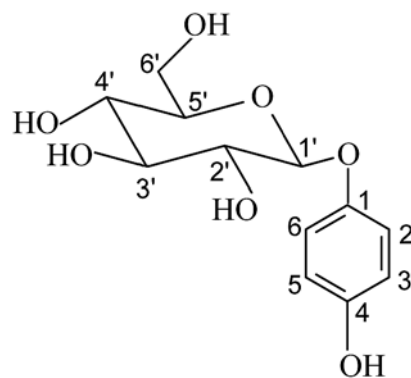
Результаты и их обсуждение

Методом жидкостной экстракции и препаративной колоночной хроматографии проведено выделение и разделение арбутина из листьев *Serratula komarovii*. Идентификацию выделенного соединения проводили, сравнивая полученные данные ЯМР-, ИК-спектров и физико-химических констант, описанных в литературе [20, 21].

Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD), δ , м.д.: 152,6 (С, С-1), 116,8 (2СН, С-2, С-6), 119,5 (2СН, С-3, С-5), 154,0 (С,

С-4), 103,7 (СН, С-1'), 74,9 (СН, С-2'), 78,1 (СН, С-3'), 71,4 (СН, С-4'), 80,4 (СН, С-5'), 62,8 (CH_2 , С-6').

Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD), δ , м.д.: 3,38 – 3,44 (м, 4Н, углевод. Н), 3,60 (д, 1Н, J 12 Гц, CH_2), 3,76 (д, 1Н, J 12,0 Гц, CH_2), 4,76 (д, 1Н, J 7,6 Гц), 6,69 (д, 2Н, J 9,0 Гц), 6,96 (д, 2Н, J 9,0 Гц).



Арбутин (β -D-глюкопиранозид гидрохинона).

Сигнал аномерного протона D-глюкозы проявляется в виде дублета при 4,76 м.д. с константой спин-спинового взаимодействия 7,6 Гц, что свидетельствует о β -конфигурации гликозидной связи.

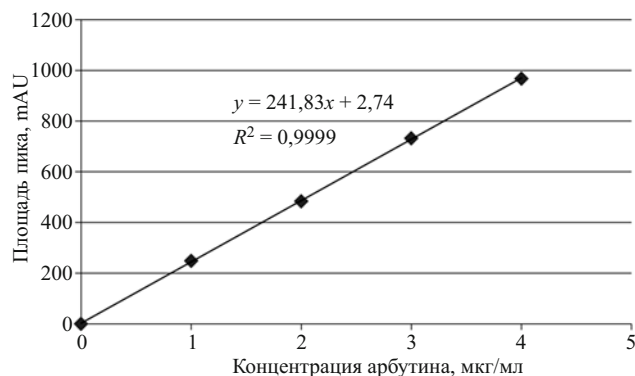


Рис. 2. Градуировочный график зависимости площади пика от содержания вещества, введенного в инжектор хроматографа.

ИК-спектр, ν_{\max} , cm^{-1} : 3374 (О-Н), 2927–2866 (С-Н), 1610–1512 (С=С), 1462–1386 (С-О).

Количественное определение и идентификацию арбутина в экстрактах надземной части (листья, стебли) *Serratula komarovii* проводили методом ОФ ВЭЖХ с использованием стандартного образца арбутина (рис. 1).

Количественное содержание определяли методом градуировочного графика. Зависимость площади хроматографического пика от содержания определяемого соединения линейна в диапазоне 0,01–4 мкг/мл (рис. 2).

Методами математической статистики оценивали погрешность измерений (размах выборки $n = 5$, $p = 0,95$).

Массовая доля арбутина в листьях и стеблях *Serratula komarovii* составляет $(3,31 \pm 0,30) \%$ и $(0,49 \pm 0,09) \%$ соответственно. В надземных органах (листьях, стеблях) *Serratula manshurica* это соединение не обнаружено.

Массовая доля арбутина в соке, выделенном из надземной части растения *Serratula quinquefolia*, произрастающего на Северном Кавказе, составляет $(0,43 \pm 0,02) \%$ от массы сырья [22], что почти в 8 раз меньше, чем в листьях *Serratula komarovii*. Таким образом, *Serratula komarovii* является перспективным источником одновременно не только арбутина, но и экдистероидов, флавоноидов. Растение *Serratula komarovii*

имеет значительный сырьевой ресурс на территории Приморского края Дальнего Востока России.

ЛИТЕРАТУРА

1. I. Ceranec, M. Litvic, *Arkivoc*, **2**, 19–24 (2008).
2. Е. В. Загузова, Т. А. Степанова, Н. А. Цимбалист, *Химия растит. сырья*, **2**, 127–133 (2015).
3. В. М. Брюханов, И. В. Смирнов, А. А. Бондарев и др., *Биомедицина*, № 4, 41–49 (2011).
4. Н. Л. Волобой, Л. Ю. Бутакова, И. В. Смирнов, *Химия растит. сырья*, № 1, 179–182 (2013).
5. В. А. Куркин, Т. К. Рязанова, А. В. Жестков и др., *Химия растит. сырья*, № 3, 53–60 (2018).
6. А. В. Степанова, *Вестник СВФУ*, **5**(61), 26–36 (2017).
7. Н. Л. Волобой, И. В. Смирнов, А. А. Бондарев, *Нефрология*, № 4, 84–87 (2012).
8. Т. Г. Могиленко, О. Н. Денисенко, И. В. Галаятдинов, *Ж. научных статей здоровье и образование в XXI веке*, **8**, 116–119 (2016).
9. В. А. Куркин, Т. К. Рязанова, И. А. Платонов и др., *Химия растит. сырья*, № 3, 95–100 (2013).
10. Д. В. Моисеев, *Научные ведомости. Сер. Медицина. Фармация*, № 12, 143–149 (2016).
11. R. D. Gibbs, *Chemotaxonomy of Flowering Plants*, Vol. 1, McGill-Queen's University Press, London (1974), pp. 90.
12. Я. К. Яцюк, С. С. Лященко, В. С. Батюк, *Химия природ. соедин.*, № 1, 54 (1968).
13. А. Н. Воробьева, Е. В. Зарембо, В. Г. Рыбин, *Бюл. физиол. патол. дыхания*, **22**, 90–93 (2006).
14. Д. Н. Оленников, Н. И. Кашенко, *Химия растит. сырья*, № 2, 37–44 (2018).
15. Д. Н. Оленников, Н. И. Кашенко, *Химия растит. сырья*, № 4, 123–135 (2017).
16. А. В. Мягчилов, О. Э. Гончаренко, Л. И. Соколова и др., *Известия вузов. Приклад. химия и биотехнол.*, № 1, 53–56 (2011).
17. A. V. Myagchilov, L. I. Sokolova, P. G. Gorovoi, et al., *Pharm. Chem. J.*, **51**(2), 119–123 (2017).
18. I. Ivashchenko, O. Ivashchenko, D. Rakhmetov, *Agrobiodiversity for improving nutrition health and life quality*, 149–154 (2016).
19. А. В. Мягчилов, Л. И. Соколова, П. Г. Горовой и др., *Химия растит. сырья*, № 4, 77–81 (2016).
20. I. Kwiecień, A. Szopa, K. Madej, et al., *Acta Bionica Polonica*, **60**(4), 865–870 (2013).
21. M. D. Natarajan, R. M. Veerabahu, P. P. Bagavathiperumal, *Int. J. Sci. Res.*, **5**(11), 1549–1554 (2016).
22. Т. Г. Могиленко, *Дис. ... канд. фарм. наук*, Пятигорск (2016).

Поступила 14.02.19

DETERMINATION OF ARBUTIN CONTENT IN FAR EASTERN SPECIES *SERRATULA KOMAROVII* ILJIN

A. V. Myagchilov^{1,2,*}, S. A. Mineev¹, L. I. Sokolova¹, E. D. Gerdasova¹, and P. G. Gorovoi²

¹ Far Eastern Federal University, Vladivostok, 690950 Russia

² G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, 690922, Vladivostok, Russia

* e-mail: DFDFDF47@yandex.ru

Biologically active compound arbutin (β -D-glucopyranoside hydroquinone) was isolated for the first time from leaves of *Serratula Komarovii* Iljin by solvent extraction (70% ethyl alcohol) and preparative column chromatography using silica gel (L 230–400 mesh) in a gradient elution mode with a solvent mixture of carbon tetrachloride and ethyl alcohol. Identification of the target compound was performed by NMR and IR spectroscopy. The content of arbutin in the aerial organs (leaves, stems) of *S. Komarovii* was determined by the method of reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP HPLC). The mass fraction of arbutin extracted from *S. Komarovii* was $3.31 \pm 0.30\%$ in the leaves and $0.49 \pm 0.09\%$ in the stems. At the same time, arbutin was not found in the above-ground organs (leaves, stems) of *S. manshurica* Kitag. species.

Keywords: arbutin; *Serratula Komarovii* Iljin; *Serratula manshurica* Kitag; leaves; stems; chromatography.