

BULLETIN OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ISSN 1991-3494

Volume 1, Number 359 (2016), 80 – 84

**PHENOLIC COMPOUNDS
FROM *Verbascum thapsus* AND *Verbascum songaricum***

B. G. Makhatova¹, U. M. Datkhayev¹, N. Ye. Burda², V. S. Kyslychenko², I. A. Zhuravel²

Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Almaty, Kazakhstan,
The National University of Pharmacy, Kharkov, Russia.
E-mail: Bakonya_mg.1989@mail.ru

Key words: mullein, HPLC, phenolic compounds.

Abstract. Common Mullein (*Verbascum Thapsus*) and Jungar mullein (*Verbascum songoricum Schrenk*) - biennial herbaceous plants of the genus Verbascum L. (Mullen), which belongs to the family Scrophulariaceae. This family includes about 360 species, mainly distributed in Asia, Europe and North America. Different sources of literature presents data regarding the use of leaves, flowers and roots of plants of the genus Verbascum in traditional Turkish medicine for the treatment of respiratory diseases, eczema, rheumatism, various wounds and anal fistulas. In addition, plants of the genus mullein used in European folk medicine as an antiseptic, astringent and expectorants, and used for treating of inflammation, migraines, asthma and spasmodic cough. Despite this, the chemical composition of these species of mullein as medicinal plants has not been studied; there is no methods of standardization. For better phytochemical study of the genus mullein, determination of qualitative composition and the content of phenolic compounds, the main biologically active compounds of presented raw material, in herb and flowers of Common Mullein and Jungar mullein using HPLC was conducted.

УДК 615:322:547. 56:577.114

**ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ СЫРЬЯ
Verbascum songaricum И *Verbascum thapsus***

Б. Г. Махатова¹, У. М. Датхаев¹, Н. Е. Бурда², В. С. Кисличенко², И. А. Журавель²

¹Казахский национальный медицинский университет им. С. Д. Асфендиярова, Алматы, Казахстан,

²Национальный фармацевтический университет, Харьков, Россия

Ключевые слова: коровяк, ВЭЖХ, фенольные соединения.

Аннотация. Коровяк обыкновенный (*Verbascum Thapsus*) и коровяк джунгарский (*Verbascum songoricum Schrenk*) - двухлетние травянистые растения рода *Verbascum L.* (Коровяк), который относится к семейству норичниковых. Семейство Scrophulariaceae включает в себя около 360 видов, преимущественно распространенных в Азии, Европе и Северной Америке. В различных источниках литературы приводятся данные относительно применения листьев, цветов и корней растений рода *Verbascum* в традиционной турецкой медицине для лечения респираторных заболеваний, экземы, ревматизма, различных ран и анальной свищи. Кроме того, растения рода коровяк используются в Европейской народной медицине в качестве антисептических, вяжущих и отхаркивающих средств, и применяется при лечении воспалений, мигрени, астмы и спазматического кашля. Несмотря на это, химический состав травы коровяка джунгарского как лекарственного растительного сырья изучен недостаточно, методики стандартизации отсутствуют. С целью более полного фитохимического изучения представителей рода коровяк нами было проведено изучение качественного состава и определено количественное содержание фенольных соединений, основных биологически активных соединений сырья, в траве и цветках коровяка обыкновенного и коровяка джунгарского методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Введение. Как известно, фенольные соединения проявляют разнообразную фармакологическую активность, в том числе противовоспалительную и антиоксидантную [1-3].

Коровяк обыкновенный (*Verbascum thapsus*) и коровяк джунгарский (*Verbascum songaricum*) – двухлетние травянистые растения семейства Scrophulariaceae. Коровяк обыкновенный распространен в Европе, Северной Америке, Азии, коровяк джунгарский – в странах Средней Азии [4].

В народной медицине многих стран мира сырье изучаемых видов коровяка используют как средства с отхаркивающим, антибактериальным, противовоспалительным, антиоксидантным, анальгезирующим, противоопухолевым, гепатопротекторным действием [5-7].

Целью данной работы было определение качественного состава и количественного содержания фенольных соединений в траве и цветках коровяка джунгарского и коровяка обыкновенного методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Методы исследования. Идентификацию и определение количественного содержания фенольных соединений проводили методом ВЭЖХ без гидролиза и с гидролизом, используя следующие методики [8].

Без гидролиза. 0,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу объемом 100 мл и добавляли 25 мл 50% спирта этилового. Колбу присоединили к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 45 минут. После этого извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу объемом 25 мл. Объем раствора доводили до метки 50% спиртом этиловым.

С гидролизом. 0,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу объемом 100 мл и добавляли 25 мл смеси: 96% спирт этиловый: вода: 25% кислота хлористоводородная (25:20:5). Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 90 минут. После этого извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу объемом 25 мл. Объем раствора доводили до метки 50% спиртом этиловым.

Хроматографическое исследование проводили на жидкостном хроматографе, оснащенном диодноматричным детектором Shimadzu HPLC-system, ser. 20 при следующих условиях: колонка Phenomenex Luna C18 (2) размером 250 мм x 4,6 мм, размер частиц 5 мкм; температура колонки – 35°C; длина волны детектирования – 330 нм; скорость потока – 1 мл/мин; объем вводимой пробы – 5 мкл; подвижная фаза:

Время хроматографирования, мин	Элюент А, %	Элюент Б, %
0-5	95	5
5-35	95→75	5→25
35-40	75	25
40-60	75→50	25→50
60-65	50→20	50→80
65-70	20	80
70-85	95	5

Примечание. Элюент А: 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде.

Элюент Б: 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в ацетонитриле.

Результаты исследования

В результате проведенного эксперимента в извлечениях из травы и цветков коровяка джунгарского и коровяка обыкновенного без гидролиза было идентифицировано 4 соединения, а в извлечениях с гидролизом – 3 вещества. Данные вещества – это фенолкарбоновые кислоты и флавоноиды. В извлечениях цветков коровяка обыкновенного и коровяка джунгарского без гидролиза не обнаружена хлорогеновая кислота, а идентифицирована феруловая кислота, которая не присутствует в траве. В извлечениях травы изучаемых видов коровяка с гидролизом обнаружена хлорогеновая, кофейная кислоты, а также лютеолин. В извлечениях из цветков данных видов коровяка с гидролизом идентифицированы кофейная кислота, апигенин и лютеолин. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1- Качественный состав фенольных соединений в сырье коровяка джунгарского и коровяка обыкновенного

Извлечения без гидролиза		Извлечения с гидролизом	
трава	цветки	трава	цветки
Хлорогеновая кислота	Феруловая кислота	Хлорогеновая кислота	Кофеинная кислота
Розмариновая кислота	Розмариновая кислота	Кофеинная кислота	Лютеолин
Лютеолин	Лютеолин	Лютеолин	Апигенин
Апигенин	Апигенин		

Время удерживания идентифицированных соединений приведено в таблице 2.

Таблица 2 – Время удерживания идентифицированных фенольных соединений в сырье коровяка джунгарского и коровяка обыкновенного

Извлечения без гидролиза					
Соединение	Коровяк обыкновенный		Коровяк джунгарский		
	Время удерживания, мин		Время удерживания, мин		
	трава	цветки	трава	цветки	
Хлорогеновая кислота	20,051	–	20,050	–	–
Феруловая кислота	–	30,693	–	30,693	–
Розмариновая кислота	37,893	37,847	37,895	37,843	–
Лютеолин	46,864	46,839	46,864	46,838	–
Апигенин	52,149	52,128	52,150	52,133	–

Извлечения с гидролизом					
Соединение	Коровяк обыкновенный		Коровяк джунгарский		
	Время удерживания, мин		Время удерживания, мин		
	трава	цветки	трава	цветки	
Хлорогеновая кислота	20,026	–	20,022	–	–
Кофеинная кислота	21,888	21,902	21,890	21,902	–
Лютеолин	46,827	46,827	46,825	46,824	–
Апигенин	–	52,127	–	52,127	–

Результаты количественного содержания фенольных соединений в сырье коровяка джунгарского и коровяка обыкновенного приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Количественное содержание фенольных соединений в сырье коровяка джунгарского и коровяка обыкновенного

Извлечения без гидролиза					
Соединение	Коровяк обыкновенный		Коровяк джунгарский		
	Количественное содержание, %		Количественное содержание, %		
	трава	цветки	трава	цветки	
Хлорогеновая кислота	0,08	–	0,06	–	–
Феруловая кислота	–	0,01	–	0,01	–
Розмариновая кислота	0,03	0,03	0,03	0,02	–
Лютеолин	0,27	0,18	0,20	0,14	–
Апигенин	0,03	0,09	0,03	0,07	–

Извлечения с гидролизом					
Соединение	Коровяк обыкновенный		Коровяк джунгарский		
	Количественное содержание, %		Количественное содержание, %		
	трава	цветки	трава	цветки	
Хлорогеновая кислота	0,02	–	0,02	–	–
Кофеинная кислота	0,14	0,07	0,11	0,04	–
Лютеолин	0,23	0,19	0,20	0,15	–
Апигенин	–	0,09	–	0,07	–

Обсуждение результатов

Как видно из таблицы 3, в извлечениях из травы и цветков коровяка обыкновенного и коровяка джунгарского без гидролиза и с гидролизом преобладал лютеолин. Сравнивая количественное содержание идентифицированных веществ в извлечениях из травы и цветков без гидролиза и с гидролизом можно сделать вывод о домinantном содержании веществ в траве и цветках коровяка обыкновенного. Количественное содержание некоторых веществ в обоих видах коровяка находилось на одинаковом уровне, например, в извлечениях без гидролиза это касается феруловой кислоты, а также розмариновой кислоты и апигенина (для травы); в извлечениях с гидролизом – хлорогеновой кислоты.

Выводы. Методом ВЭЖХ было проведено изучение качественного состава и определено количественное содержание фенольных соединений в траве и цветках коровяка обыкновенного и коровяка джунгарского. Было установлено, что во всех исследуемых образцах доминировал по содержанию лютеолин.

Проведенное исследование может быть использовано при разработке методик контроля качества на лекарственное растительное сырье и при создании новых фитосредств.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Cuong T.D., Hung T.M., Lee J.S. et al. Anti-inflammatory activity of phenolic compounds from the whole plant of *Scutellaria indica* // *Bioorg Med Chem Lett.* – 2015. – 25(5). – P. 1129-1134.
- [2] Azofeifa G., Quesada S., Boudard F. et al. Antioxidant and anti-inflammatory in vitro activities of phenolic compounds from tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichos*) // *J Agric Food Chem.* – 2013. – 61(24). – P. 5798-5804.
- [3] Olszewska M.A., Presler A., Michel P. Profiling of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Dry Extracts from the Selected *Sorbus* Species // *Molecules* – 2012. – 17. – P. 3093-3113.
- [4] Panchal M.A., Murti K., Lambole V. Pharmacological properties of *Verbascum Thapsus* – A review // *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.* – 2010. – 5(2). – P. 73-77.
- [5] Süntar I., Tatlı I.I., Akkol E.K. et al. An ethnopharmacological study on *Verbascum* species: From conventional wound healing use to scientific verification // *Journal of Ethnopharmacology.* – 2010. – 132. – P. 408–413.
- [6] SPERANZA L., FRANCESCHELLI S., PESCE M. ET AL. ANTIINFLAMMATORY EFFECTS IN THP-1 CELLS TREATED WITH VERBASCOSIDE // *PHYTOTHER RES.* – 2010. – 24(9). – P. 1398-1404.
- [7] Pal H., Kumar T., and Karki H. In vitro antioxidant and renoprotective potential of methanolic extract of *Verbascum thapsus* leaf in rats // *Der Pharmacia Sinica.* – 2013. – 4(2). – P. 14-23.
- [8] Khoddami A., Wilkes M.A., Roberts Th. H. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds // *Molecules* – 2013. – 18. – P. 2328-2375.

REFERENCES

- [1] Cuong T.D., Hung T.M., Lee J.S. et al. Anti-inflammatory activity of phenolic compounds from the whole plant of *Scutellaria indica*, *Bioorg Med Chem Lett.*, **2015**, 25(5), 1129-1134.
- [2] Azofeifa G., Quesada S., Boudard F. et al. Antioxidant and anti-inflammatory in vitro activities of phenolic compounds from tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichos*), *J Agric Food Chem.*, **2013**, 61(24), 5798-5804.
- [3] Olszewska M.A., Presler A., Michel P. Profiling of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Dry Extracts from the Selected *Sorbus* Species, *Molecules*, **2012**, 17, 3093-3113.
- [4] Panchal M.A., Murti K., Lambole V. Pharmacological properties of *Verbascum Thapsus* – A review, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **2010**, 5(2), 73-77.
- [5] Süntar I., Tatlı I.I., Akkol E.K. et al. An ethnopharmacological study on *Verbascum* species: From conventional wound healing use to scientific verification, *Journal of Ethnopharmacology*, **2010**, 132, 408–413.
- [6] SPERANZA L., FRANCESCHELLI S., PESCE M. ET AL. ANTIINFLAMMATORY EFFECTS IN THP-1 CELLS TREATED WITH VERBASCOSIDE, *PHYTOTHER RES.*, **2010**, 24(9), 1398-1404.
- [7] Pal H., Kumar T., and Karki H. In vitro antioxidant and renoprotective potential of methanolic extract of *Verbascum thapsus* leaf in rats, *Der Pharmacia Sinica*, **2013**, 4(2), 14-23.
- [8] Khoddami A., Wilkes M.A., Roberts Th. H. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds, *Molecules*, **2013**, 18, 2328-2375.

***Verbascum songaricum* ЖӘНЕ *Verbascum thapsus* ШИКІЗАТТАРЫНДА
ФЕНОЛДЫ ҚОСЫЛЫСТАРДЫ АНЫҚТАУ**

Б. Г. Махатова¹, У. М. Датхаев¹, Н. Е. Бурда², В. С. Кисличенко², И. А. Журавель²

¹С. Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті, Алматы, Қазақстан,

²Национальный фармацевтический университет, Харьков, Ресей

Тірек сөздер: сиырқүйрық, жоғарыэффективті сұқыттық хроматография, фенолдық қосылыстар.

Аннотация. Жонғар аюқұлақ және кәдімгі аюқұлақ Scrophulariaceae тұқымдасының *Verbascum L.* тегінің екі жылдық шөпті өсімдіктері. Scrophulariaceae тұқымдасы Солтүстік Америка, Европа және Азияда таралған 360 текке бөлінеді. Түрлі әдебиеттерде *Verbascum L.* тегінің өсімдіктерінің жапырактары, гүлдері және тамырларының респираторлық аурулар, экзема, ревматизм және түрлі жарагаларды емдеуге түрік халық медицинасында қолданылатыны көрсетілген. Бұдан басқа аюқұлақ тегінің өкілдері Европаның халық медицинасында антисептикалық, уылдырығыш, қақырық түсіретін дәрі дәрмек ретінде және бұлдырып жәтелу, астма, бас ауруын және түрлі қабынуларды емдеуге колданылады. Бұған қарамастан жонғар аюқұлақтың химиялық құрамы емдік шикізат ретінде зерттелуі шектеулі және стандартизация әдістері жоқ. Осыған орай аюқұлақ тегінің осы өкілдерінің толық фитохимиялық зерттеуін жүргізу мақсатында кәдімгі аюқұлақ пен жонғар аюқұлақтың фенолдық қосылыстарының сандық және сапалық құрамын жоғарыэффективті сұқыттық хроматография әдісін қолдану арқылы анықталды.

Поступила 10.02.2016 г.