

# 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 лазающих 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].

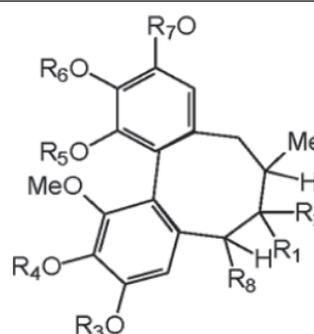
Цель исследования – анализ лигнанов листьев лимонника китайского, заготовленных в Воронежской области, методом ВЭЖХ.

### 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»).

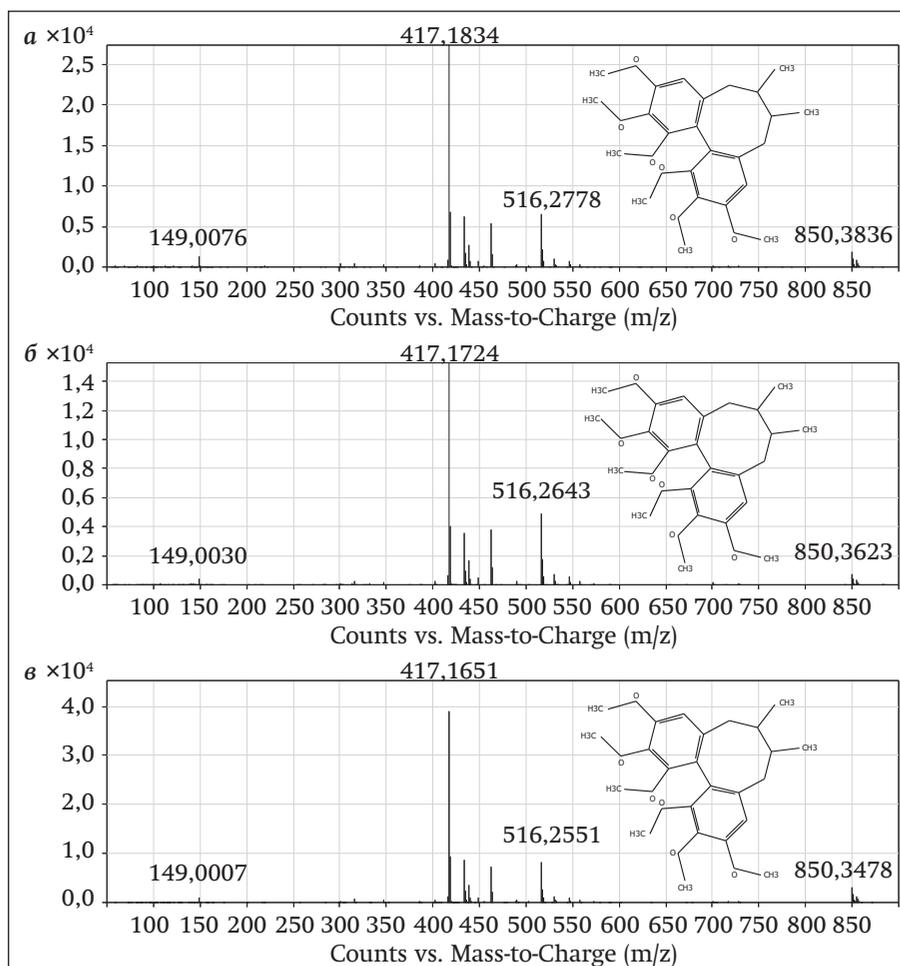


**Рис. 1.** Общая формула лигнанов лимонника китайского  
**Fig. 1.** General formula of *Schizandra chinensis* Benth lignans

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

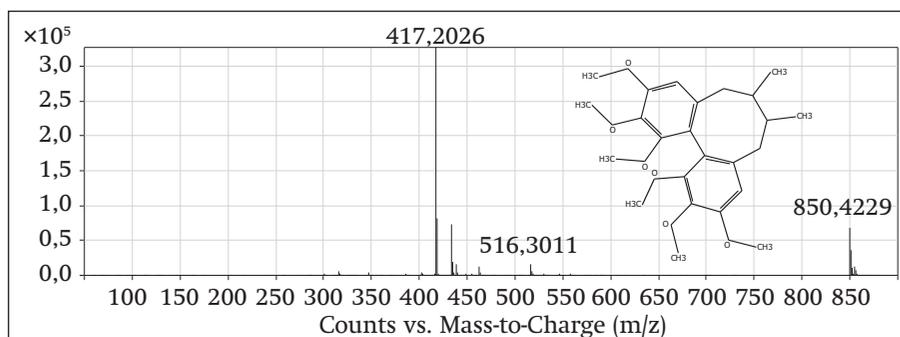
(А) – вода (В) + 0,1% муравьиной кислоты. Градиентное смешение растворителей. Начало – 50% (А) в течение 0,5 мин, затем, 50–95% (А) за 6,5 мин, и ещё 1,5–2 мин при 95% (А). Температура термоста

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 (N<sub>2</sub>) 20 psig; газ-осушитель (N<sub>2</sub>), 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 CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-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., Tamulina 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