

ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ ФЛАВОЛИГНАНОВ В ПЛОДАХ *SILYBUM MARIANUM* GAERTH. ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ДАГЕСТАНА

Ф.А. Вагабова

к.т.н., ст. науч. сотрудник, лаборатория фитохимии и медицинской ботаники,
Горный ботанический сад, Дагестанский научный центр РАН (г. Махачкала)
E-mail: fazina@mail.ru

М.М. Мамалиева

мл. науч. сотрудник, лаборатория фитохимии и медицинской ботаники,
Горный ботанический сад, Дагестанский научный центр РАН (г. Махачкала)
E-mail: mamalieva89@mail.ru

А.М. Мусаев

ст. науч. сотрудник, и.о. зав. лабораторией фитохимии и медицинской ботаники,
Горный ботанический сад, Дагестанский научный центр РАН (г. Махачкала)
E-mail: musaev-58@list.ru

А.С. Чубарова

к.б.н., ст. науч. сотрудник, лаборатория прикладных проблем биологии, биологический факультет,
Белорусский государственный университет (г. Минск)
E-mail: ann.shchekatihina@gmail.com

Г.К. Раджабов

науч. сотрудник, лаборатория фитохимии и медицинской ботаники,
Горный ботанический сад, Дагестанский научный центр РАН (г. Махачкала)
E-mail: chemfarm@mail.ru

Приведены данные по изучению флаволигнанов в плодах *Silybum marianum* Gaerth. (без учета окраски оболочки плодов) из природных образцов Дагестана. Показано, что дагестанские популяции по содержанию флаволигнанов относятся к силидианиновой хеморасе.

Ключевые слова: расторопша пятнистая, дагестанские популяции, флаволигнаны, силибинин, силидианин, хемораса.

Для цитирования: Вагабова Ф.А., Мамалиева М.М., Мусаев А.М., Чубарова А.С., Раджабов Г.К. Изменчивость содержания флаволигнанов в плодах *Silybum marianum* Gaerth. из природных популяций Дагестана. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018;21(11):24–29. <https://doi.org/10.29296/25877313-2018-11-03>

Расторопша пятнистая (*Silybum marianum* Gaerth.) – двулетнее растение, относится к семейству астровых (сложноцветные) – Asteraceae Dumort (Compositae Giseke). Родина этого растения – Средиземноморье, откуда расторопша пятнистая широко распространилась по всему земному шару. Это растение произрастает в южных районах европейской части России, на юге Западной Сибири, на Кавказе и в Средней Азии; встречается обычно вдоль дорог, на заброшенных полях, пустырях и мусорных свалках, разводится в садах, огородах [1–3], культивируется во многих странах. В Дагестане *S. marianum* растет на сухих склонах, полях, до нижнего горного пояса, вдоль широтного градиента, сплошной полосой от севера к югу [4].

Расторопша пятнистая в народной медицине применяется издревле, но в связи с проведением во всем мире научных исследований по созданию гепатопротекторных препаратов на основе плодов расторопши пятнистой, во второй половине 20 века заново возник интерес к этому виду [1, 2].

Химический состав расторопши пятнистой включает в себя флаволигнаны, флавоноиды, жирное масло, эфирное масло, стеролы, органические кислоты, горечи, смолы, сахара, сапонины и др. [1]. Флаволигнаны, в основном, содержатся в оболочке плодов *S. marianum* и составляют по разным данным от 1 до 4% [5–8] в зависимости от разновидности, места произрастания, погодных условий сбора. Флаволигнаны представлены такими соеди-

нениями, как силибин, изосилибин, 2,3-дегидросилибин, силандрин, силикристин, силидианин, силимонин, 2,3-дегидросиликристин, изосиликристин, силигермин. Суммарный экстракт обладает более выраженной биологической активностью, чем отдельные флаволигнаны [9]. Доминирующими компонентами являются силибин, силидианин, силикристин, сумма которых получила название – силимарин [5]. Силимарин проявляет гепатопротекторную активность, оказывая противовирусное, противовоспалительное, антиоксидантное и иммуномодулирующее действие на печень и иммунные клетки [10, 11].

На сегодняшний день обнаружено две основные хеморасы расторопши пятнистой: силибининная и силидианиновая, различающиеся по преимущественному содержанию соответствующих флаволигнанов [12].

Уникальность дагестанских популяций *S. marianum* в том, что они состоят из растений озимого типа, являются самоопылителями, отличаются высокой внутривидовой изменчивостью окраски оболочки плода – от светло-кремовой до интенсивно черной. Большинство плодов пятнистые. Кроме того, плоды из природных популяций имеют очень низкую всхожесть; при посеве сразу не прорастают, всхожесть растянута на несколько лет, при этом максимальная всхожесть на первом году жизни – у плодов более светлой окраски. Для окультуривания дагестанских популяций необходимо проводить предварительную работу по отбору на увеличение дружности и одновременности всходов.

Ц е л ь р а б о т ы – определение содержания флаволигнанов в оболочке плодов дагестанских образцов расторопши пятнистой без учета их окраски.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Плоды *S. marianum* были собраны в разных природных географических пунктах Дагестана в фазу плодоношения, в середине июня 2013 и 2015 гг. Собранное сырье без учета фенотипа плодов анализировали на содержание флаволигнанов.

Силимарин получали по методике [13] с модификациями. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 1 мм. Измельченное сырье обезжиривали петролейным эфиром, затем однократно экстрагировали этиловым спиртом 80%-ным в соотношении 1:10 при температуре 60 °С в водяной бане с обратным холодильником. Извле-

чение пропускали через бумажный фильтр и использовали для анализа методом ВЭЖХ.

Исследование проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1100 («Agilent Technologies», США). Разделение выполняли на колонке C18 (250×4,6 мм, размер частиц – 5 мкм) при температуре колонки 40 °С. Градиентную элюацию осуществляли со скоростью 1 мл/мин. Объем вводимой пробы – 5 мкл. Идентификацию проводили по времени удержания на ВЭЖХ по внутренним стандартам, а также с использованием силибина «Sigma». Силибин и изосилибин А и В идентифицировали масс-спектрометрией ранее в лаборатории Белорусского государственного университета (БГУ), и для идентификации их в исследуемых образцах сравнивали с лабораторными стандартами по времени удерживания на ВЭЖХ.

Относительное содержание отдельных флаволигнанов в экстрактах плодов рассчитывали по площадям соответствующих пиков с помощью программного обеспечения ChemStation for LC 3D systems («Agilent Technologies», США). В качестве стандартных образцов использовали коммерческие препараты таксифолина («Fluka», Германия), силимарина и силибинина («Sigma», США), а также внутренние стандарты силикристина и силидианина, полученные в лаборатории прикладных проблем биологии биологического факультета БГУ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 приведено относительное содержание каждого компонента силимарина в стандартном образце «Sigma» (СО силимарин) и исследованных извлечениях из плодов расторопши пятнистой.

Образцы собраны:

- 2013-1 – окр. с. Джебель, 540 м над ур. моря;
- 2013-2 – окр. с. Эминхюр, 240 м над ур. моря;
- 2013-3 – окр. с. Зидьян, 35 м над ур. моря;
- 2013-4 – окр. с. Гелинботан, 300 м над ур. моря;
- 2013-5 – окр. с. Талги, 130 м над ур. моря;
- 2013-6 – окр. с. Уллубий-аул, 35 м над ур. моря;
- 2015-1 – окр. с. Зидьян, 35 м над ур. моря;
- 2015-2 – окр. с. Уллубий-аул, 35 м над ур. моря;
- 2015-3 – окр. с. Эминхюр, 240 м над ур. моря;
- 2015-4 – окр. г. Махачкала (окр. пос. Красноармейск), 15 м над ур. моря.

Для определения хеморасы, к которой принадлежат исследованные плоды расторопши, графически представляли соотношение флаволигнанов в каждом экстракте и сравнивали со стандартными рисунками (рис. 1).

Таблица 1. Относительное содержание основных флаволигнанов (%) в плодах *S. marianum* из природной флоры Дагестана сборов 2013 и 2015 гг.

Образец	Таксифолин	Силикристин	Силидианин	Силибин А	Силибин В	Изосилибин А	Изосилибин В
СО силимарин	3,15	29,98	5,16	19,50	31,35	8,07	2,63
2013-1	8,62	6,29	60,14	2,38	5,1	10,08	7,39
2013-2	8,63	6,49	58,86	2,49	5,47	10,38	7,68
2013-3	6,94	6,42	61,33	2,29	5,28	10,20	7,54
2013-4	9,67	6,27	58,76	2,35	5,28	10,23	7,44
2013-5	5,08	6,38	64,32	2,35	5,16	9,87	6,84
2013-6	5,85	6,42	61,44	2,56	5,47	10,39	7,87
2015-1	6,74	6,78	60,3	2,54	5,92	10,97	6,74
2015-2	6,15	6,41	61,08	2,46	5,58	10,53	7,8
2015-3	8,58	6,23	60,11	2,3	5,29	10,08	7,43
2015-4	6,27	6,68	59,78	2,34	5,77	11,01	8,15

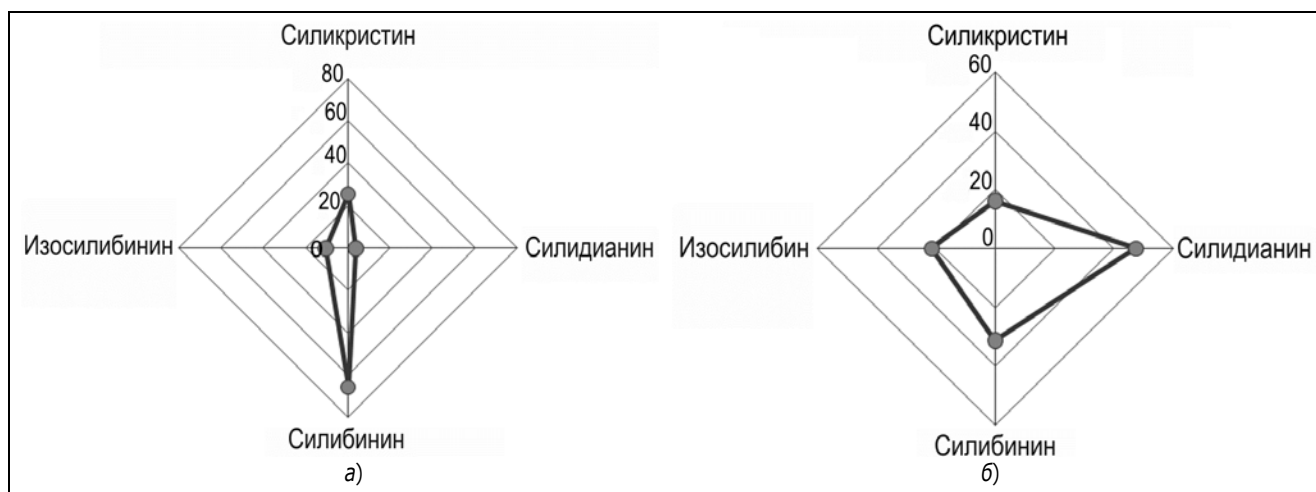


Рис. 1. Соотношение относительного содержания флаволигнанов в плодах *S. marianum* в двух хеморасах: а – силибининовая хемораса; б – силидианиновая хемораса

Исследованные образцы *S. marianum* содержали приблизительно одинаковое количество основных веществ (рис. 2), т.е. сильного различия по времени (годы) и по месту сбора сырья не наблюдалось. По форме графиков (рис. 2) видно, что соотношение флаволигнанов в стандартном образце соответствует силибининовой хеморасе, а в исследованных экстрактах – силидианиновой.

В итоге было показано, что соотношение флаволигнанов в стандартном образце соответствует силибининовой хеморасе, а в исследованных экстрактах – силидианиновой.

На рис. 2 видно, что только один образец отличается по относительному содержанию флаволигнанов, и этот образец – СО силимарин.

Для дополнительного доказательства принадлежности к определенной хеморасе рассчитывали соотношения силибинин/силикристин и силидианин/изосилибинин. Экспериментальным путем установлено, что для силибининовой хеморасы соотношение силибинин/силикристин составляет 2,5; силидианин/изосилибинин – 0,3; для силидианиновой хеморасы эти же соотношения составляют – 1,9; 2,2 соответственно (табл. 2).

Показано, что для СО силимарина соотношения силибинин/силикристин и силидианин/изосилибинин соответствуют силибининовой хеморасе, а во всех остальных исследованных образцах соотношения силибинин/силикристин и силидианин/изосилибинин соответствуют силидианиновой хеморасе.

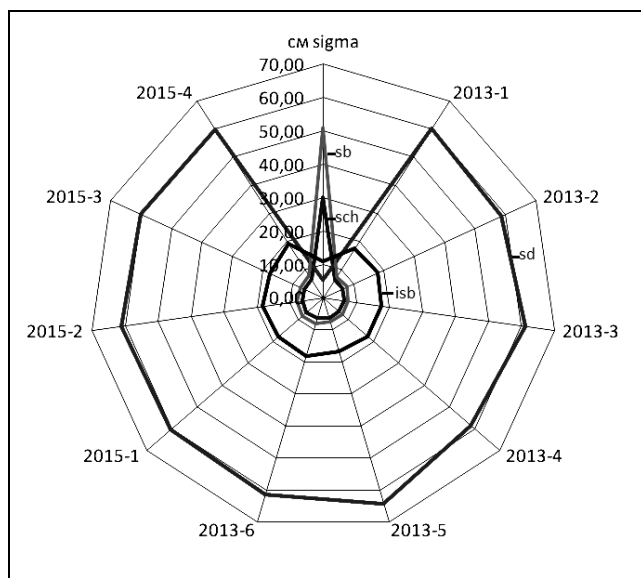


Рис. 2. Соотношение относительного содержания флаволигнанов в полученных экстрактах *S. marianum* и СО силимарина (sd – силидианин; isb – изосилибинин; sb – силибинин; sch – силикристин)

Таблица 2. Соотношения силибинин/силикристин и силидианин/изосилибинин в СО силимарина и исследованных образцах *S. marianum*

Образец	Силибинин/ силикристин	Силидианин/ изосилибинин
СО силимарин	1,70	0,48
2013-1	1,19	3,44
2013-2	1,23	3,26
2013-3	1,18	3,46
2013-4	1,22	3,33
2013-5	1,18	3,85
2013-6	1,25	3,37
2015-1	1,25	3,41
2015-2	1,26	3,33
2015-3	1,22	3,43
2015-4	1,21	3,12

Выводы

1. Впервые изучены дагестанские природные образцы *S. marianum* на содержание флаволигнанов в плодах без учета их окраски.

2. Результаты анализа показали, что в изученных образцах *S. marianum* сильного разброса по годам и по месту сбора сырья основных флаволигнанов (таксофолин, силикристин, силидианин, силибин А, силибин В, изосилибин А, изосилибин В) не наблюдалось.
3. На основании графического анализа соотношения основных флаволигнанов и расчета соотношений силибинин/силикристин и силидианин/изосилибинин показано, что все представленные дагестанские образцы расторопши пятнистой принадлежат силидианиновой хеморасе.
4. У изученных образцов *S. marianum* наблюдается низкая межпопуляционная дифференциация по содержанию и композиционному составу флаволигнанов. Возможно, это связано с отсутствием интенсивных микроэволюционных процессов вдоль широтного градиента без наличия географических барьеров, наличие которых обычно приводит к образованию экотипов, что является следствием данных процессов.
5. Полученные результаты представляют особый интерес для научных изысканий и для практического применения в медицине.

ЛИТЕРАТУРА

1. Цаприлова В., Родионова Р.А. Расторопша пятнистая: химический состав, стандартизация, применение // Вестник фармации. 2008. № 3(41). С. 92–104.
2. Куркин В.А. Расторопша пятнистая – источник лекарственных средств (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 2003. № 4(37). С. 27–41.
3. Лифантьева Н.А., Хуснидинов Ш.К. Особенности фенологии расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) в условиях Предбайкалья // Материалы международной научно-практической конференции молодых учёных «Научные исследования и разработки к внедрению в АПК», посвященной 80-летию образования ИРГСХА (28-29 апреля 2014 г.), г. Иркутск. 2014. С. 15–21.
4. Муртазаев Р.А. Конспект флоры Дагестана / Отв. ред. чл.-корр. РАН Р.В. Камелин. Махачкала: «Эпоха». 2009. Т. III. 304 с.
5. Щекатикина А.С., Гавриленко Н.В., Курченко В.П. Оценка содержания изомеров флаволигнанов расторопши пятнистой в гепатопротекторных препаратах // Вестник БГУ. 2010. (Сер. 2). № 2. С. 73–78.
6. Tumová L., Řimáková J., Tuma J., Dušek J. *Silybum marianum* in vitro- flavolignan production // Plant Soil Environ. 2006. V. 52. № 10. P. 454–458.
7. Буркуш С.А., Чижов С.В., Фирстова Н.В., Глебова Н.Н., Кузнецова А.В. Сравнительное исследование методов стандартизации плодов расторопши *Silybum marianum* // Известия высших учебных заведений. Поволжский реги-

- он. Медицинские науки. 2016. №4(40). С. 30–9. Doi: 10.21685/2072-3032-2016-4-4.
8. Юрьев К.Л. Силимарин: эффекты и механизмы действия, клиническая эффективность и безопасность. Часть I. Эффекты и механизмы действия // Украинський медичний часопис. 2010. № 2(76). – III/IV. С. 71–75.
 9. Ананикян Г.С., Мнацаканян В.А., Паносян Г.А., Саргисян С.А. Флаволигнаны расторопши Арцаха // Химический журнал Армении. 2015. № 1(68). С. 51–56.
 10. AbouZid S., Ahmed Osama M. Silymarin flavonolignans: structure–activity relationship and biosynthesis // Studies in Natural Products Chemistry. 2013. V. 40. P. 469–484. Doi:org/10.1016/B978-0-444-59603-1.00014-X.
 11. Pradhan S.C., Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine // Indian J Med Res. 2006. V.124. P. 491–504.
 12. Курченко В.П., Щекатишина А.С. Содержание флаволигнанов расторопши пятнистой в плодах и гепатопротекторных препаратах // Здоровье Украины. 2011. С. 2–3.
 13. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 3 т. Т. 3. Контроль качества фармацевтических субстанций / Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении / Под общ. ред. А.А. Шерякова. Минский государственный ПТК полиграфии. 2006. С. 712–713.

Поступила после доработки 19 сентября 2018 г.

THE VARIABILITY OF THE CONTENT OF FLAVOLIGNANS IN FRUITS OF *SILYBUM MARIANUM* GAERTH. FROM THE NATURAL FLORA OF DAGHESTAN

© Authors, 2018

F.A. Vagabova

Ph.D. (Eng.), Senior Research Scientist, Laboratory of Phytochemistry and Medical Botany, Mountain Botanical Garden, Dagestan Scientific Center of RAS (Makhachkala)

E-mail: fazina@mail.ru

M.M. Mamaliyeva

Junior Research Scientist, Laboratory of Phytochemistry and Medical Botany, Mountain Botanical Garden, Dagestan Scientific Center of RAS (Makhachkala)

E-mail: mamaliyeva89@mail.ru

A.M. Musaev

Senior Research Scientist, a.h. of Laboratory of Phytochemistry and Medical Botany, Mountain Botanical Garden, Dagestan Scientific Center of RAS (Makhachkala)

E-mail: musaev-58@lust.ru

A.S. Chubarova

Ph.D.(Biol.), Laboratory of Applied Problems of Biology, Biology Faculty, Belarusian State University (Minsk)

E-mail: ann.shchekatihina@gmail.com

G.K. Radjabov

Research Scientist, Laboratory of Phytochemistry and Medical Botany, Mountain Botanical Garden, Dagestan Scientific Center of RAS (Makhachkala)

E-mail: chemfarm@mail.ru

The studying of component content of flavolignan in fruits of *Silybum marianum* Gaerth. (without coloring of a cover of fruits) from natural Dagestan samples was the purpose of work. *S. marianum* grows in Dagestan on dry slopes, fields to the lower mountain belt, along the width gradient, at a continuous strip from the North to the South. The feature of the Dagestan populations of *S. marianum* is that they consist of plants of winter type, self-pollinators with high intra population variability on coloring of a cover of a fruit - from light-cream to intensively black. Fruits for the analysis were collected in different geographical points of Dagestan in a fruiting stage in June, 2013 and 2015. According to the standard technique with some modification it was received silymarin: the crushed raw materials with a size of particles of 1 mm degreasing petroleum ether, then were extracted by 80% - ethyl alcohol in the ratio 1:1 at 60°C in a water bath with the return refrigerator, for the analysis by high performance liquid chromatography method (HPLC) (Agilent Technologies, the USA). The identification of flavolignan in the studied raw materials was carried out on deduction time for HPLC according to internal standards and also with the use of a silibin of Sigma. As standard samples used commercial medicines of taksifolin (Fluka, Germany), a silymarin and a silibinin (Sigma, the USA) and also the internal standards of a silikristin and silidianin received in laboratory of Applied problems of biology of biological faculty of the Belarusian state university. Silibin and isosilibinin A and isosilibinin B were identified mass spectrometry in BGU laboratory earlier, and for identification in our samples compared them to laboratory standards on keeping time for HPLC. The results of the analysis showed what in the studied samples of *S. marianum* of strong dispersion by years and in the place of collecting raw materials of the main flavolignan (taksifolin, silikristin, silidianin, silibinin A, silibinin B, isosilibinin A, isosilibinin B) was not observed.

The experimental and settlement by methods it is proved that all presented Dagestan samples on the maintenance of flavolignan belong to a silidianin hemorasa.

It is interesting to note that the studied samples of *S. marianum* showed low interpopulation differentiation according to contents and composite structure of flavolignan which, perhaps, is connected with lack of intensive microevolutionary processes along the width gradient without existence of geographical barriers. The obtained data are of scientific and practical interest

Key words: milk thistle, Dagestan populations, flavolignans, silibinin, silidianin, chemorase.

For citation: Vagabova F.A., Mamaliyeva M.M., Musaev A.M., Chubarova A.S., Radjabov G.K. The variability of the content of flavolignans in fruits of *Silybum marianum* Gaerth. from the natural flora of Daghestan. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2018;21(11):24–29. <https://doi.org/10.29296/25877313-2018-11-03>

REFERENCES

1. Czaprilova V., Rodionova R.A. Rastoropsha pyatnistaya: khimicheskiy sostav, standartizatsiya, primeneniye // Vestnik farmatsii. 2008. V. 41. № 3. P. 92–104.
2. Kurkin V.A. Rastoropsha pyatnistaya – istochnik lekarstvennykh sredstv (obzor) // Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal. 2003. V. 37. № 4. P. 27–41.
3. Lifanteva N.A., Khusnidinov Sh.K. Osobennosti fenologii rastoropshi pyatnistoy (*Silybum Marianum* (L.) Gaertn.) v usloviyakh Predbaykalya // Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchyonnykh «Nauchnye issledovaniya i razrabotki k vnedreniyu v APK», posvyaschennoy 80-letiyu obrazovaniya IrGSKhA (28-29 aprelya 2014 g.), g. Irkutsk. 2014. P. 15–21.
4. Murtazaliev R.A. Konspekt flory Dagestana / Otv. red. chl.-korr. RAN R.V. Kamelin. Makhachkala: «Jepoha». 2009. V. III; 304 p.
5. Schekatikhina A.S., Gavrilenko N.V., Kurchenko V.P. Ocenka sodержaniya izomerov flavolignanov rastoropshi pyatnistoy v gepatoprotekturnykh preparatakh // Vestnik BGU. 2010. (Ser. 2). № 2. P. 73–78.
6. Tumorá L., Řimáková J., Tuma J., Dušek J. *Silybum marianum* in vitro-flavolignan production // Plant Soil Environ. 2006. V. 52, № 10. P. 454–458.
7. Burkush S.A., Chizhov S.V., Firstova N.V., Glebova N.N., Kuzneczova A.V. Sravnitelnoye issledovaniye metodov standartizatsii plodov rastoropshi *Silybum marianum* // Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedeniy. Povolzhskiy region. Medicinskie nauki. 2016. V. 40. № 4. P. 30–9. Doi: 10.21685/2072-3032-2016-4-4.
8. Yurev K.L. Silimarin: efekty i mekhanizmy deystviya, klinicheskaya effektivnost i bezopasnost. Chast I. Efekty i mekhanizmy deystviya // Ukrainskiy medichniy chasopis. 2010. V.76. № 2. III/IV. P. 71–75.
9. Ananikyan G.S., Mnaczkanyan V.A., Panosyan G.A., Sargisyan S.A. Flavolignany rastoropshi Arczakha // Khimicheskiy zhurnal Armenii. 2015. V. 68. № 1. P. 51–56.
10. AbouZid S., Ahmed Osama M. Silymarin flavonolignans: structure–activity relationship and biosynthesis // Studies in Natural Products Chemistry. 2013. V. 40. P. 469–484. Doi:org/10.1016/B978-0-444-59603-1.00014-X.
11. Pradhan S.C., Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine // Indian J Med Res. 2006. V. 124. P. 491–504.
12. Kurchenko V.P., Schekatikhina A.S. Soderzhanie flavolignanov rastoropshi pyatnistoy v plodakh i gepatoprotekturnykh preparatakh // Zdorove Ukrainy. 2011. P. 2–3.
13. Gosudarstvennaya farmakopeya Respubliki Belarus'. V 3 t. T. 3. Kontrol' kachestva farmatsevticheskikh substantsiy / Tsentr ekspertiz i ispytaniy v zdruvookhraneni / Pod obshch. red. A.A. Sheryakova. Minskiy gosudarstvennyy PTK poligrafii. 2006. S. 712–713.



Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

Алпизарин (таблетки, мазь), рег. №№ 85/507/2; 85/507/10; 85/507/16 – противовирусное средство, получаемое из травы копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) или копеечника желтеющего (*Hedysarum flavescens* Rerel et Schmalh). По сравнению с ацикловиром обладает более широким спектром действия.

Аммифурин (таблетки, спиртовой раствор), рег. №№ 83/914/9; 70/151/47; 70/151/48 – фотосенсибилизирующее средство, получаемое из плодов амми большой (*Ammi majus* L.).

Анмарин (линимент, гель, лосьон (раствор)), рег. №№ 90/248/1; 95/178/5; 90/248/4 – антифунгальное, противогрибковое средство, получаемое из плодов амми большой (*Ammi majus* L.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Fax: 8(495)712-09-18;

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru