

УДК 615.322: 615.071: 615.074

DOI: 10.18413/2313-8955-2016-2-2-44-49

Писарев Д.И.¹,
Севрук И. А.²,
Малютина А.Ю.³,
Крикун Е.Н.⁴,
Новикова М.Ю.⁵,
Гурьев И.В.⁶

**ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА АНТОЦИАНОВ
ТРАВЫ *OCIMUM BASILICUM* L. В РАМКАХ НАУЧНОГО
НАПРАВЛЕНИЯ «ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ РЕМЕЙК»**

- 1) доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, доцент НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: pisarev@bsu.edu.ru
- 2) ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ»,
- 3) старший преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, кандидат фармацевтических наук НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: malyutina_a@bsu.edu.ru
- 4) директор медицинского колледжа медицинского института, доктор медицинских наук, профессор НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail:krikun@bsu.edu.ru
- 5) доцент кафедры фармацевтической технологии, кандидат фармацевтических наук НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail: mnovikova@bsu.edu.ru
- 6) аспирант второго года обучения кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ», 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия, E-mail:526173@bsu.edu.ru

Аннотация. Базилик обыкновенный (*Ocimum basilicum* L.) – однолетнее растение семейства губоцветных (*Labiatae*). В диком виде растет в Южной Америке, в Иране, Китае, на юге Европейской части России, на Кавказе, в Средней Азии и на Дальнем Востоке. Культивируется в Западной Европе, Азии, Африке, Америке. Несмотря на широкое использование в народной медицине, растение остается наиболее востребованным в кулинарии и пищевой промышленности. Химический состав до сих пор недостаточно изучен. В связи с этим начато фитохимическое изучение травы *Ocimum basilicum* L. В статье представлены результаты исследования состава антоцианов. В ходе хроматографического анализа травы *Ocimum basilicum* L. было установлено присутствие двенадцать антоциановых гликозидов. Обнаруженные соединения находятся в виде депсидов с оксикоричными кислотами, о чём свидетельствуют их характерные УФ-профили. Агликоном антоциановых гликозидов является цианидин, что было подтверждено кислотным гидролизом. Одиннадцать из обнаруженных антоциановых гликозидов представлены в виде депсидов с п-кумаровой кислотой.

Ключевые слова: *Ocimum basilicum* L.; антоцианы; ВЭЖХ; фармацевтический ремейк.

Pisarev D.I.¹,
Sevruk I.A.²,
Malyutina A.Yu.³,
Krikun E. N.⁴,
Novikova M.Yu.⁵,
Guryev I. V.⁶

**THE STUDY OF *OCIMUM BASILICUM* L. HERB ANTHOCYANINS
WITHIN THE "PHARMACEUTICAL REMAKE" SCIENTIFIC FIELD**

- 1) Doctor of Pharmacy, Associate Professor. Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: pisarev@bsu.edu.ru
- 2) Assistant Lecturer. Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: sevruk@bsu.edu.ru
- 3) PhD in Pharmacy, Senior Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: malyutina_a@bsu.edu.ru

- 4) Doctor of Pharmacy, Professor, Director of Medical College. The Medical Institute, Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: krikun@bsu.edu.ru
- 5) PhD in Pharmacy, Associate Professor, Department of Pharmaceutical Technology. Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: mnovikova@bsu.edu.ru
- 6) PhD Student of the second year of study. Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: 526173@bsu.edu.ru

Abstract. *Ocimum basilicum* L. – an annual plant of the *Labiatae* family. It grows wild in South America, Iran, China, in the south of the European part of Russia, the Caucasus, Central Asia and the Far East. It is cultivated in Western Europe, Asia, Africa, America. Despite the widespread use in folk medicine, the plant is most popular in the culinary and food industry. The chemical composition is still poorly studied, that is why the phytochemical study of *Ocimum basilicum* L. herb was started. The article presents the results of studies of the anthocyanins composition. During the chromatographic analysis *Ocimum basilicum* L. herb there was established the presence of twelve anthocyanin glycosides. The detected compounds are in the form of a depsides hydroxycinnamic acids, as evidenced by their characteristic UV profiles. Cyanidin was found to be the aglycon of anthocyanin glycosides, which was confirmed by acid hydrolysis. Eleven of the detected anthocyanin glycosides were represented in the form of depsides with p-coumaric acid.

Keywords: *Ocimum basilicum* L.; anthocyanins; HPLC; Pharmaceutical remake.

Введение. Под термином «Фармацевтический ремейк» предложено понимать комплекс традиционных и инновационных технологических, аналитических и фармакологических операций (моделей), приводящих к возрождению ранее известных и ныне не используемых лекарственных составов и форм [1].

Увеличение ассортимента лекарственных препаратов на основе растительного сырья происходит в первую очередь в результате заимствования перспективных растений из народной медицины. Одним из таких растений является широко известный базилик обыкновенный – *Ocimum basilicum* L. (рис. 1) [2].



Рис.1. Внешний вид *Ocimum basilicum* L.
Figure 1. *Ocimum basilicum* L. Appearance

Базилик обыкновенный (базилик огородный, базилик душистый, красный василек, райхон узбекский, реан армянский, рейган азербайджанский) – растение семейства Яснотковые (губоцветные). Как целебное растение известен давно. Он упоминается в работах Теофраста, Гиппократы, Dioscorida. Авиценна рекомендовал использовать базилик для лекарственных целей. В Древнем Риме листья базилика использовались как успокоительное,

жаропонижающее средство и как регулятор стула, сок – при отитах. Сок растения, смешанный с винным уксусом, он рекомендовал для смазывания прыщей и «горячих опухолей», а смесь сока с камфарой и винным уксусом – от носового кровотечения [3].

В народной медицине трава *O. basilicum* L. используется в качестве отхаркивающего, противовоспалительного средства, гастритах, колитах, нефрите. Настой из листьев применяют

при стоматите, неврозах, бронхиальной астме, снижении аппетита, кроме того является эффективным лактогонным средством [4, 5].

Бasilic обыкновенный, благодаря содержанию камфоры, успешно применяется как возбуждающее и общетонизирующее средство при угнетении ЦНС и астении, эпилепсии головной боли, головокружениях, мигрени, бессоннице, аменорее нарушении кровообращения, алкоголизме, рвоте, как средство, улучшающее пищеварение (в том числе, при нарушениях пищеварения, вызванных применением сульфаниламидов) [3].

Настой базилика обладает антисептическим, противосудорожным, спазмолитическим, жаропонижающим, болеутоляющим, седативным, местно раздражающим, вяжущим, мочегонным ветрогонным, репаративным действием. Употребляется при хроническом гастрите, пиелите, печеночных и кишечных коликах, диспепсии, метеоризме запоре. Используется при кашле, коклюше бронхиальной астме, простуде и насморке (уменьшает выделение из носовых пазух слизи), потере обоняния при хроническом рините, гриппе, при пониженном кровяном давлении, воспалении мочевого пузыря (цистите) и почек, как средство, улучшающее лактацию, расслабляющее гладкую мускулатуру матки [3].

Наружно настой листьев базилика используют как обезболивающий препарат для полосканий при стоматитах, ангине, зубной боли, при труднозаживающих ранах для примочек [3].

Траву базилика используют для приготовления ароматических и успокаивающих ванн, в качестве мягчительного средства для компрессов, в виде растираний и мазей при миозитах, невритах, ревматизме, подагре, параличе [3].

В индийской медицине цветки используют как успокаивающее средство, плоды – при хроническом поносе и дизентерии, гонорее, корни – при кишечных инфекциях у детей [3].

Трава *O. basilicum* L. содержит широкий спектр биологически активных соединений, в их числе эфирные масла, фенольные соединения, включая флавоноиды и антоцианы.

В ряде зарубежных сообщений указывается, фиолетовый базилик является богатым источником ацилированных и гликозилированных антоцианов и может представить интерес в качестве уникального источника стабильных красных пигментов для пищевой промышленности [6].

Антоцианидины – это производные катиона флавилия. Особенностью строения антоцианидинов является наличие в гетероциклическом кольце четырехвалентного кислорода (оксония) и свободной положительной валентности. Антоцианы отвечают за окраску плодов, цветков и других частей растений от оранжевого до синего [7]. На окраску антоцианидинов влияет число и природа заместителей: гидроксильные группы, несущие свободные электронные пары, обуславливают батохромный сдвиг при увеличении их числа. Гликозидирование, метилирование или ацилирование гидроксильных групп антоцианидинов приводит к уменьшению или исчезновению батохромного эффекта [8, 9].

Большие различия между природными антоцианами связаны с разнообразием углеводных фрагментов, присоединенных к агликону по гидроксильным группам, как правило, в положении 3, реже одновременно в двух положениях – 3 и 5. Кроме того, большей частью разнообразие антоцианов обусловлено различием производных, в которых некоторые из гидроксильных групп углеводного фрагмента ацилированы уксусной, малоновой, кумаровыми, кофейной и другими кислотами [10, 11, 12].

Для антоцианов в настоящее время доказаны следующие виды фармакологической активности:

- антиоксидантная – высокая антирадикальная активность антоцианов во много раз превышает таковую других классов флавоноидов [13].

- вазопротекторная – уменьшают ломкость и проницаемость капилляров, улучшая функцию эндотелия [14].

- противовоспалительная – способствуют стабилизации выработки коллагена, ингибируют агрегацию тромбоцитов и стимулируют выработку эндотелием простагландинов. Кроме того, установлена способность антоцианов гасить воспалительные процессы в легких, снижая активность ферментов [15].

- противоопухолевая – антоцианы уменьшают скорость деления раковых клеток [16].

- фунгицидная и антимикробная активность – антоцианы способны ингибировать биосинтез афлатоксинов [17].

Учитывая вышесказанное, целью настоящего исследования явилось изучение химическое изучение состава антоцианов *O. basilicum* L. в

развитии научного направления «Фармацевтический ремейк».

Материалы и методы. Для определения антоцианов 2,5 г свежей травы *O. basilicum* L., измельчили и помещали в плоскодонную колбу вместимостью 100 мл, заливали 25 мл экстрагента – 1%-ного раствора кислоты хлористоводородной в спирте этиловом 95%-ном, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на магнитной мешалке при температуре 80°C в течение 30 мин. Полученное извлечение декантировали и оставшееся сырьё заливали свежей порцией того же экстрагента в количестве 25 мл. Всего было сделано четыре экстракции. Извлечение каждый раз фильтровали в мерную колбу вместимостью 100 мл. Содержимое мерной колбы доводили экстрагентом до метки. Полученный фильтрат далее исследовали на содержание антоцианов.

Для разделения исследуемого объекта использовали метод ОФ ВЭЖХ.

Хроматографические исследования проводили на хроматографическом приборе фирмы «Agilent Technologies 1200 Infinity» производства США с автоматическим пробоотборником *Agilent 1200*, вакуумным микродегазатором, градиентным насосом и термостатом той же серии. Электронные спектры

поглощения регистрировали с помощью спектрофотометрического детектора с диодной матрицей серии *Agilent 1200* (диапазон длин волн от 190 до 950 нм), шаг сканирования – 2 нм.

Для регистрации и обработки спектральных данных и хроматограмм использовали программное обеспечение «*Agilent Chem Station*».

Для приготовления подвижных фаз использовали следующие растворители: воду сверхчистую (для жидкостной хроматографии), спирт метиловый, кислоту муравьиную.

Идентификацию компонентов осуществляли по совпадению времён удерживания анализируемых веществ со СО зафиксированных в аналогичных условиях эксперимента и по результатам диодно-матричного детектирования.

Сумму антоцианов подвергали хроматографическому разделению в следующих условиях: подвижная фаза – (А) – 1%-ный водный раствор кислоты муравьиной, (Б) – спирт этиловый в градиентном режиме элюирования; колонка – *Ascentis express C₁₈ 2,7µm × 100 мм × 4,6 мм*; скорость подвижной фазы – 0,5 мл/мин; температура колонки +35 °С; объём вводимой пробы 1 µl; детекция диодно-матричная – 520 нм.

Состав подвижной фазы программировали в условиях, указанных в таблице 1.

Таблица 1

Условия градиентного элюирования антоцианов

Table 1

Terms of gradient elution of anthocyanins

Время, мин	А,%	Б,%
0	90	10
10	80	20
20	70	30
30	50	50
40	10	90

Идентификацию компонентов осуществляли по совпадению времён удерживания анализируемых веществ со СО зафиксированных в аналогичных условиях эксперимента и по результатам диодно-матричного детектирования.

Результаты и обсуждение. Хроматограмма разделения суммы антоцианов травы *O. basilicum* L. представлена на рисунке 2.

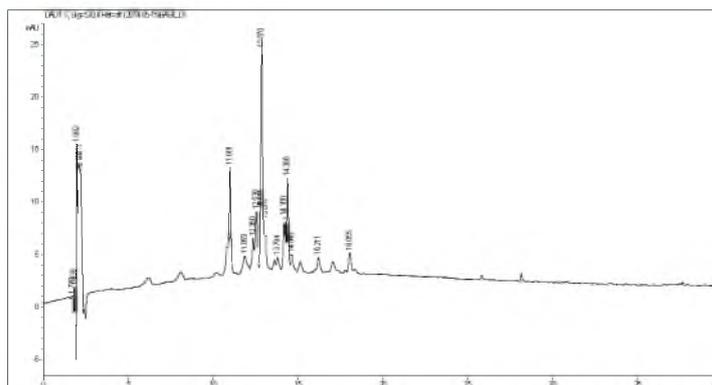


Рис. 2. Хроматограмма антоцианов *O. basilicum* L. (детекция диодно-матричная $\lambda_{\max} = 530$ nm)
Fig. 2. Chromatography of anthocyanins of *O. basilicum* L. (diode array detector $\lambda_{\max} = 530$ nm)

В результате хроматографирования установлено присутствие в траве базилика 12 антоциановых гликозидов, причём данные соединения находятся в виде депсидов с оксикоричными кислотами, о чём свидетельствуют их характерные УФ-профили. Агликоном антоциановых гликозидов является цианидин, что было подтверждено кислотным гидролизом. Причём 11 антоциановых гликозидов представлены в виде депсидов с п-кумаровой кислотой, УФ-профиль, одного из компонентов представлен на рисунке 3.

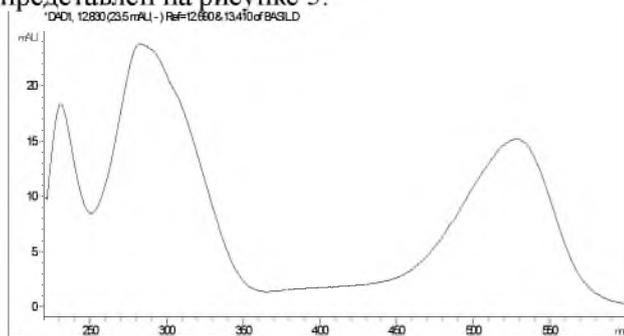


Рис. 3. УФ-профиль депсида антоцианового гликозида с п-кумаровой кислотой
Fig. 2. UV-profile of depesides anthocyanins glucoside with p-coumaric acid

Один из антоциановых гликозидов находится в виде депсида с кофейной кислотой (рисунок 4).

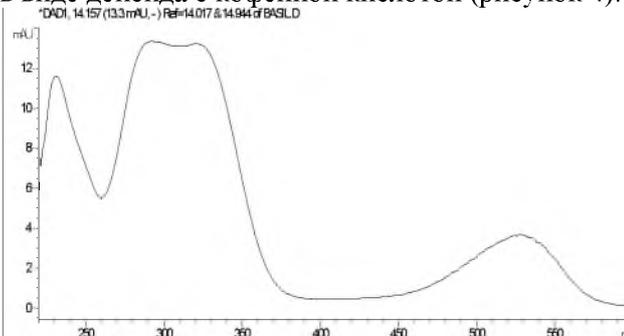


Рис. 4. УФ-профиль депсида антоцианового гликозида с кофейной кислотой
Fig. 2. UV -profile of depesides anthocyanins with caffeic acid glycoside

Количественное определение антоцианов проводили методом *pH* – дифференциальной спектрофотометрии.

Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид в процентах (X) вычисляли по формулам 1 и 2:

$$D = (D_{510} - D_{700})_{pH1,0} - (D_{510} - D_{700})_{pH4,5}$$

$$X = \frac{D \times M_M \times W_1 \times W_2 \times 100}{\epsilon \times l \times m \times V \times 10 \times (100 - B)}$$

где W_1 – общий объем извлечения из сырья, мл;

W_2 – объем разведения, мл;

m – масса сырья, г;

V – аликвота, взятая для разбавления, мл;

M_M – молярная масса цианидина-3-глюкозида, равная 449,17;

l – толщина кюветы, см;

ϵ – молярный коэффициент поглощения, равный 26900;

B – влажность сырья.

В результате установлено, что в свежем сырье *O. basilicum* L. суммарное содержание антоцианов составило – $0,48 \pm 0,054\%$.

Проведённые исследования позволяют рекомендовать траву *O. basilicum* L. в качестве источника биологически активных антоцианов.

Заключение

Человечеству известно несколько тысяч лекарственных растений, но официальной медициной сегодня используется около 300. В последние десятилетия в связи с появлением новой нозологической формы – «лекарственной болезни» – актуальность применения препаратов из растительного сырья резко возрастает.

Путь введения в официальную рецептуру лекарственных форм на основе биологически активных соединений ранее известных в народной медицине лекарственных растений предоставляет в распоряжение разработчиков практически неограниченные возможности. Данный путь расширения номенклатуры лекарственных средств является рациональным и

малозатратным, т.к. исключает необходимость проведения в каждом конкретном случае полномасштабного научного поиска.

Приведенные материалы о химии базилика обыкновенного формируют дополнительный инструментарий для реализации целевых научных исследований.

Литература

1. Можжевельник: фитохимия и фармакология рода *Juniperus* L. / Новиков О.О., Писарев Д.И., Жилиякова Е.Т., Трифонов Б.В. М.: Изд-во РАМН, 2014. 178 с.

2. Базилик обыкновенный. Электронный ресурс: http://ezidri-master.com/images/Sushka-trav/bazilik/bazilik_2.jpg Дата обращения: 24.02.2016.

3. Базилик обыкновенный. Электронный ресурс: <http://knigazdorovyia.com/bazilik-obyiknovennyiy/> Дата обращения: 24.02.2016.

4. Лавренёва Г.В., Лавренёв В.К. Полная энциклопедия лекарственных растений. Том 1. СПб.: Издательский дом «Нева»; М.: «ОЛМА-ПРЕСС», 1999. 736 с.

5. Соколов, С. Я. Фитотерапия и фитотерапевтика: Руководство для врачей.- М.: Медицинское информационное агентство, 2000.- 976 с.

6. Phippen B.W., Simon J.E. Anthocyanins in Basil (*Ocimum basilicum* L.) // *J. Agric. Food Chem.*- 1998.- Vol.46, №5.- P. 1734-1738.

7. Биохимия растений / Л. А. Красильникова, О. А. Авксентьева, Ю. А. Жмурко [и др.]. Ростов н/Д : Феникс; Харьков : Торсинг, 2004. - 224 с.

8. Гейсман Т. Антоцианы, халконы, ауроны, флавоны и родственные им водорастворимые пигменты // Биохимические методы анализа растений: сб. ст. М., 1960. - С. 453.

9. Кишковский З.Н., Скурихин И.М. Химия вина. М.: Пищевая промышленность, 1976. – 312 с.

10. Методы анализа минорных биологически активных веществ пищи / под ред. В. А. Тутельяна, К. И. Элдера; НИИ питания РАМН. М.: Династия, 2010. – 180 с.

11. Antal D.-S., Gârban G., Gârban Z. The anthocyanins: biologically-active substances of food and pharmaceutical interest // *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI : Food Technology. Galati, 2003. Pp. 106-115.*

12. Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development / L. Jaakola, K. Määttä, A. M. Pirttilä [et al.] // *Plant. Physiol.* 2002. Vol.130. №2. Pp. 729-739.

13. Lila M. A. Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach // *J. Biomed. Biotechnol.* – 2004.- Vol.2004, №5.- Pp. 306-313.

14. Analysis and biological activities of anthocyanin / J. M. Kong, L. S. Chia, N. K. Goh [et al.] // *Phytochemistry.*- 2003.- Vol.64, №5.- Pp. 923-933.

15. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries / H. Wang, M. G. Nair, G. M. Strasburg [et al.] // *J. Nat. Prod.*- 1999.- Vol.62, №2.- Pp. 294-296.

16. Hou D. X. Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins // *Curr. Mol. Med.*- 2003.- Vol.3, №2.- P. 149-159.

17. Norton R. A. Inhibition of Aflatoxin B1 Biosynthesis in *Aspergillus flavus* by Anthocyanidins and Related Flavonoids // *J. Agric. Food. Chem.* 1999. Vol.47, №3. Pp. 1230-1235.

References

1. Novikov O.O., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T. *Juniper: Phytochemistry and Pharmacology of Genus Juniperus* L. M.: Academy of Medical Sciences, 2014. 178 p.

2. *Basil ordinary. Electronic resource: http://ezidri-master.com/images/Sushka-trav/bazilik/bazilik_2.jpg* (date of access: February 24, 2016).

3. *Sweet Basil. Electronic resource: http://knigazdorovyia.com/bazilik-obyiknovennyiy/* (date of access: February 24, 2016).

4. Lavrenev G.V., Lavrenev V.K. *Complete Encyclopedia of Medicinal Plants. Volume 1.* SPb.: Publishing house "Neva"; M.: "OLMA-Press", 1999. 736 p.

5. Sokolov, S.Ya. *Phytotherapy and Phytopharmacology: A Guide for doctors.* M.: Medical News Agency, 2000. 976 p.

6. Phippen B.W., Simon J.E. Anthocyanins in Basil (*Ocimum basilicum* L.) // *J. Agric. Food Chem.*- 1998. Vol.46, №5. Pp. 1734-1738.

7. *Plant Biochemistry* / L.A. Krasil'nikova, O.A. Avksentiev, Yu. Zhmurko [et al.]. Rostov n / D: Phoenix; Kharkov: Torsing, 2004. 224 p.

8. Geysman T. Anthocyanins, Chalcones, Aurones, Flavones and Related Water-soluble Pigments // *Biochemical Methods of Plant Analysis: Sat. Art. M., 1960. 453 pp.*

9. Kishkovsky Z.N., Skurihin I.M. *Wine Chemistry.* M.: Food Industry, 1976. 312 p.

10. *Methods of Analysis of Minor Biologically Active Substances of Food* / ed. V.A. Tutelian, K.I. Eller; Institute of Nutrition. MM: Dynasty, 2010. 180 p.

11. Antal D.-S., Gârban G., Gârban Z. The anthocyanins: biologically-active substances of food and pharmaceutical interest // *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI : Food Technology. Galati, 2003. Pp. 106-115.*

12. Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development / L. Jaakola, K. Määttä, A. M. Pirttilä [et al.] // *Plant. Physiol.* 2002. Vol.130. №2. Pp. 729-739.

13. Lila M. A. Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach // *J. Biomed. Biotechnol.*- 2004. – Vol.2004, №5. – Pp. 306-313.

14. Analysis and biological activities of anthocyanin / J. M. Kong, L. S. Chia, N. K. Goh [et al.] // *Phytochemistry.*- 2003.- Vol.64, №5.- Pp. 923-933.

15. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries / H. Wang, M. G. Nair, G. M. Strasburg [et al.] // *J. Nat. Prod.*- 1999.- Vol.62, №2.- Pp. 294-296.

16. Hou D. X. Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins // *Curr. Mol. Med.*- 2003.- Vol.3, №2.- P. 149-159.

17. Norton R. A. Inhibition of Aflatoxin B1 Biosynthesis in *Aspergillus flavus* by Anthocyanidins and Related Flavonoids // *J. Agric. Food. Chem.* 1999. Vol.47, №3. Pp. 1230-1235.