

Скрининговое химико-ботаническое исследование *Brunnera sibirica* (Boraginaceae)

В.В. Величко, Д.С. Круглов, Д.Л. Прокушева, Н.О. Ким

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Растения семейства бурачниковые (*Boraginaceae*) недостаточно изучены. Одним из его представителей является бруннера сибирская (*Brunnera (B.) sibirica* Steven) – многолетнее травянистое растение, которое встречается на территории Западной Сибири, легко вводится в культуру и имеет достаточно большую биомассу. Данных о химическом составе *B. sibirica* в литературе не обнаружено, но известно о применении в народной медицине бруннеры крупнолистной (*B. macrophylla* (Adams) I.M. Johnst.) в качестве антибактериального и противомикробного средства. Учитывая принцип филогенетического родства, можно предположить наличие у *B. sibirica* аналогичных свойств.

Цель. Фитохимический анализ и выявление микродиагностических признаков *B. sibirica*.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования выступали листья, генеративные побеги и корневища *B. sibirica*, заготовленные в Новосибирской области. Суммарные извлечения из сырья, полученные с использованием в качестве экстрагентов воды очищенной, водно-спиртовых смесей и 2% хлороводородной кислоты, использовали для качественного и количественного анализа компонентов растительного сырья с применением спектрофотометрического и гравиметрического методов анализа. Исследование микроморфологии листьев и корневищ проводили с использованием метода микроскопии.

Результаты. В сырье были обнаружены основные группы биологически активных соединений (БАС) и определено их количественное содержание в органах растения. Так, наибольшее количество флавоноидов и оксикоричных кислот извлекается из генеративных побегов, более богаты хлорофиллом листья, а антоцианами – генеративные побеги; водорастворимые вещества (полифлавановые соединения и полисахариды) в большем количестве извлекаются из корневищ. В результате микроскопического анализа морфологии листьев и поперечных срезов корневищ установлены признаки, по которым можно диагностировать подлинность сырья.

Заключение. Наличие БАС, обладающих противовоспалительным, бактерицидным и регенерирующим действием, создает предпосылки для более детального изучения *B. sibirica* как перспективного источника растительного сырья.

Ключевые слова: *Brunnera sibirica*, *Boraginaceae*, рутин, феруловая кислота, хлорофилл, антоцианы, полисахариды, алкалоиды.

Образец цитирования: Величко В.В., Круглов Д.С., Прокушева Д.Л., Ким Н.О. Скрининговое химико-ботаническое исследование *Brunnera sibirica* (*Boraginaceae*) // Journal of Siberian Medical Sciences. 2025;9(3):54-66. DOI: 10.31549/2542-1174-2025-9-3-54-66

Screening study of *Brunnera sibirica* (*Boraginaceae*): chemical composition and plant structure

V.V. Velichko, D.S. Kruglov, D.L. Prokusheva, N.O. Kim

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. Plants of the *Boraginaceae* family are insufficiently studied. One of its representatives is *Brunnera (B.) sibirica* Steven, a perennial herbaceous plant that can be found in Western Siberia, is easily introduced into cul-

Поступила в редакцию 11.12.2024
Прошла рецензирование 28.01.2025
Принята к публикации 11.02.2025

Автор, ответственный за переписку
Величко Виктория Владимировна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: velichkvik@rambler.ru

Received 11.12.2024
Revised 28.01.2025
Accepted 11.02.2025

Corresponding author
Victoria V. Velichko: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasnyy prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: velichkvik@rambler.ru

tivation and has a fairly large biomass. There are no data on the chemical composition of *B. sibirica* in the literature, but it is known about the use of *B. macrophylla* (Adams) I.M.Johnst. in traditional medicine as an antibacterial and antimicrobial agent. Considering the principle of phylogenetic affinity, it can be assumed that *B. sibirica* has similar properties.

A i m . Phytochemical analysis and detection of microdiagnostic signs of *B. sibirica*.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . The objects of the study were the leaves, reproductive shoots and rhizomes of *B. sibirica* harvested in the Novosibirsk region. The total extracts from the raw materials obtained using purified water, water-ethanol mixtures and 2% hydrochloric acid as extractants were used for qualification and quantitation of the components of the plant raw materials using spectrophotometric and gravimetric methods. The micromorphology of leaves and rhizomes was studied using microscopy.

R e s u l t s . The main groups of biologically active compounds (BAC) were found in the raw materials and their quantitative content in plant organs was determined. Thus, the largest amount of flavonoids and hydroxycinnamic acids is extracted from reproductive shoots, leaves are more rich in chlorophyll, and reproductive shoots are more rich in anthocyanins; water-soluble substances (polyflavan compounds and polysaccharides) are extracted in large amount from rhizomes. Using microscopic analysis of the leave morphology and transversal sections of the rhizomes, signs for identification of the raw materials were established.

C o n c l u s i o n . The presence of BAC with anti-inflammatory, bactericidal and regenerating effects creates prerequisites for a more detailed study of *B. sibirica* as a promising source of plant raw materials.

Keywords: *Brunnera sibirica*, *Boraginaceae*, rutin, ferulic acid, chlorophyll, anthocyanins, polysaccharides, alkaloids.

Citation example: Velichko V.V., Kruglov D.S., Prokusheva D.L., Kim N.O. Screening study of *Brunnera sibirica* (*Boraginaceae*): chemical composition and plant structure. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2025;9(3):54-66. DOI: 10.31549/2542-1174-2025-9-3-54-66

ВВЕДЕНИЕ

На современном фармацевтическом рынке лекарственные препараты, которые содержат растительные компоненты, пользуются большой популярностью. Такой выбор объясняется тем, что фитопрепараты чаще всего имеют более мягкое фармакологическое действие и способны оказать комплексное влияние на организм человека. Как правило, если лекарственные растения не содержат ядовитых и сильнодействующих веществ, они обладают низкой токсичностью, что способствует снижению риска возникновения нежелательных реакций. Имея дело с новым растительным сырьем, важно исследовать химический состав и разработать критерии определения его подлинности и доброкачественности.

Среди перспективных объектов для исследования особый интерес представляет малоизученное растение бруннера (б.) сибирская (*Brunnera* (*B.*) *sibirica* Steven) – многолетнее травянистое корневищное растение из семейства бурачниковых (*Boraginaceae*). В целом род *Brunnera* Steven включает, кроме б. сибирской, еще два вида: б. крупнолистную – *B. macrophylla* (Adams) I.M.Johnst. и б. восточную – *B. orientalis* (Schenk) I.M.Johnst. [1]. При этом на территории России (рис. 1) произрастают только б. крупнолистная и б. сибирская [2].

Б. сибирская имеет более обширное распространение на территории России, представляет

INTRODUCTION

In the modern pharmaceutical market, medicines that contain herbal ingredients are very popular. This choice is explained by the fact that herbal medicinal products most often have a milder pharmacological effect, and can have an integrated effect on the human body. As a rule, if medicinal plants do not contain poisonous and potent substances, they have low toxicity, which allows reducing the risk of adverse reactions. When dealing with new plant raw materials, it is important to investigate the chemical composition and develop criteria for determining its identity and quality.

Among the promising objects for research, the little-studied *Brunnera* (*B.*) *sibirica* Steven, a perennial herbaceous rhizomatous plant from the *Boraginaceae* family is of concern. In general, the genus *Brunnera* Steven includes, in addition to the *B. sibirica*, two more species: *B. macrophylla* (Adams) I.M.Johnst. and *B. orientalis* (Schenk) I.M.Johnst. [1]. At the same time, only *B. macrophylla* and *B. sibirica* grow in Russia (Fig. 1) [2].

B. sibirica has a more extensive distribution within the territory of Russia, is a nemoral relict of the Tertiary and is a characteristic element of the underwood of taiga. It has a rather narrow isolated range, covering Altai, Kuznetsk Alatau, Northeastern Tyva, Western and Eastern Sayans, and several isolated areas of its range in the Tomsk region [3, 4]. Despite the fact that *B. sibirica* has limited natural

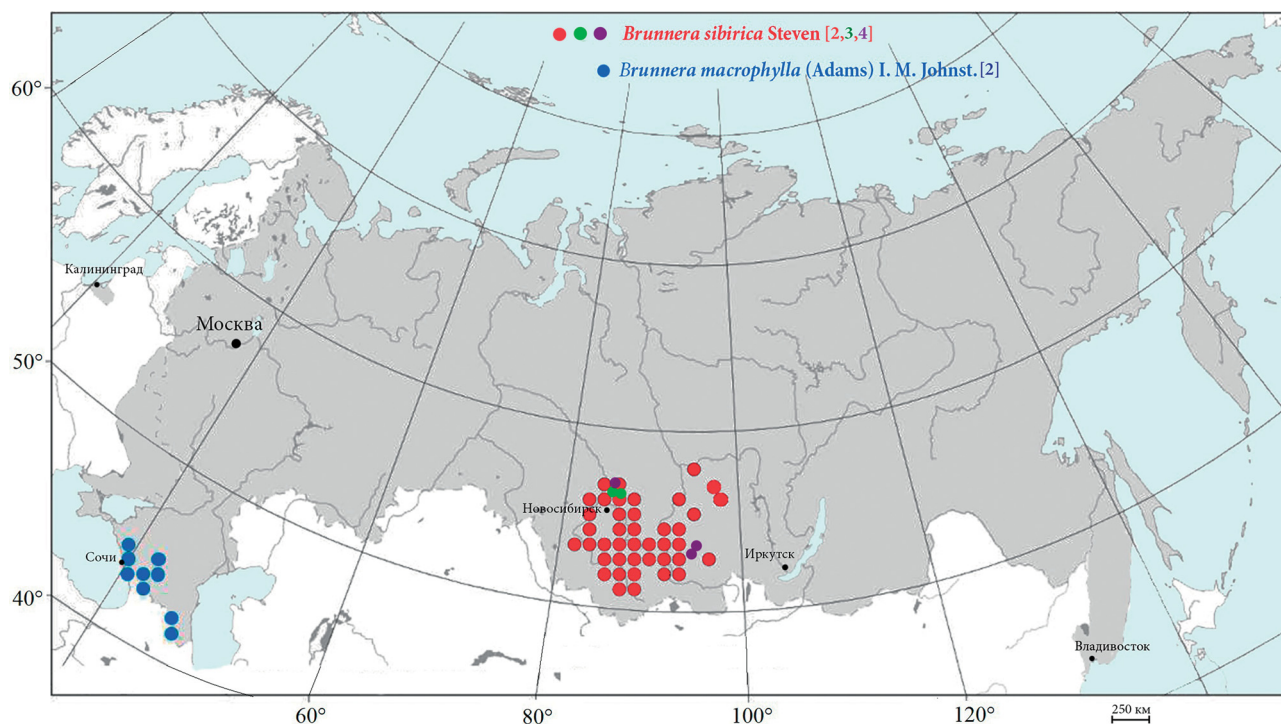


Рис. 1. Ареал распространения бруннеры крупнолистной и бруннеры сибирской на территории Российской Федерации (рисунок выполнен авторами с помощью программы Photoshop путем наложения карт ареалов отдельных видов, представленных в [2])

Fig. 1. Distribution of *B. macrophylla* and *B. sibirica* within the territory of the Russian Federation (the figure was made by the authors using Photoshop by superimposing maps of the ranges of individual species presented in [2])

собой неморальный реликт третичного периода и является характерным элементом нижнего яруса черневых лесов. Имеет достаточно узкий дизъюнктивный ареал, охватывающий Алтай, Кузнецкий Алатау, Северо-Восточную Тыву, Западный и Восточный Саяны, несколько изолированных участков ареала в Томской области [3, 4]. Несмотря на то, что б. сибирская имеет ограниченные запасы сырья в природе, она превосходно вводится в культуру, образует обширные заросли, имеет большую фитомассу, неприхотлива, зимостойка, длительно существует в культуре, может расти на одном месте более 30 лет [5].

Научные данные о химическом составе б. сибирской имеют разрозненный характер, кроме того, нет достоверной информации о ее применении в народной медицине. Однако есть сведения о применении близкородственного вида – б. крупнолистной – в качестве антибактериального и противогрибкового средства [6]. Учитывая принцип филогенетического родства, можно предположить у б. сибирской аналогичные свойства.

Таким образом, б. сибирская – перспективное растение для проведения скрининга новых лекарственных растений.

reserves of raw materials, it is excellently introduced into culture, forms extensive thickets, has a large phytomass, is low maintenance, frost-hardy, exists in culture for a long time, can grow in one place for more than 30 years [5].

Scientific data on the chemical composition of *B. Sibirica* are scattered, in addition, there is no reliable information about its use in traditional medicine. However, there is evidence of the use of a closely related species, *B. macrophylla* as an antibacterial and antifungal agent [6]. Considering the principle of phylogenetic similarity, it can be assumed that *B. Sibirica* has similar properties.

Thus, *B. Sibirica* is a promising species for new medicinal plant screening.

AIM OF THE RESEARCH

Phytochemical analysis and identification of microdiagnostic signs of *B. sibirica*.

MATERIALS AND METHODS

The objects of the study were the leaves, reproductive shoots and rhizomes of *B. sibirica* harvested in the summer of 2023 from plants cultivated on a private plot in the village of Vengerovo, Novosibirsk region (55°68' N, 76°72' W). The planting material –

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Фитохимический анализ и выявление микро-диагностических признаков бруннеры сибирской.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования выступали листья, генеративные побеги и корневища *B. sibirica*, заготовленные летом 2023 г. от растений, культивируемых на приусадебном участке в с. Венгерово Новосибирской области (55°68' с.ш., 76°72' в.д.). Посадочный материал в виде кусков корневищ был взят в 2020 г. из природной заросли, расположенной в смешанном лесу в 1 км на юго-запад от пос. Коларово Томского района Томской области (56°20' с.ш., 84°55' в.д.). Сырье после заготовки очищали от примесей и поврежденных частей и сушили воздушно-теньевым способом в закрытом помещении до воздушно-сухого состояния.

Для определения микроморфологического строения листьев проводили предварительное размачивание объектов путем кипячения в течение одной минуты в 5% водном растворе натрия гидроксида. Анатомическое строение корневищ исследовали на поперечных срезах, сырье предварительно выдерживали в течение 2 месяцев в фиксирующем растворе – вода:глицерин:95% этанол в соотношении 1:1:1. В качестве заключающей и просветляющей жидкости использовали смесь воды и глицерина в соотношении 1:1. Для выявления лигнифицированных элементов в структуре корневищ проводили окрашивание срезов 0,1% раствором паранитроанилина. Микроскопическое исследование проводили с использованием микроскопов Zeiss Axio Scope.A1 и «Микромед-6» при увеличении в 25–400 раз в проходящем свете (для выявления структурных элементов тканей). Полученные изображения фиксировали с помощью цифровой фотокамеры Zeiss AxioCam 512 color и системы визуализации «Микромед Visual SMP 9,7"».

В ходе общего фитохимического анализа были исследованы водные и водно-спиртовые извлечения из цветков и листьев б. сибирской с помощью качественных реакций для определения основных групп биологически активных соединений (БАС) – флавоноиды, дубильные вещества, сапонины, полисахариды, антоцианы, кумарины – с использованием общепринятых фармакопейных методик [7]. Присутствие алкалоидов определяли, используя общеосадительные реактивы: Вагнера – Бушарда, Драгендорфа, Майера, Марки, Шейблера, Бертрана, Зонненштейна, растворы танина и пикриновой кислоты.

pieces of rhizomes – was taken in 2020 from a natural thicket of a mixed forest located 1 km southwest of the village Kolarovo, Tomsk district, Tomsk region (56°20' N, 84°55' W). After harvesting, the raw materials were cleaned of impurities and damaged parts and brought to an air-dry state indoors by shade drying.

To determine the micromorphological structure of the leaves, the objects were macerated by boiling for one minute in a 5% aqueous solution of sodium hydroxide. The anatomical structure of the rhizomes was examined on transversal sections; the raw materials were exposed for 2 months to a fixing solution – water:glycerin:95% ethanol in a ratio of 1:1:1. A mixture of water and glycerin in a ratio of 1:1 was used as a mounting and clearing liquid. To identify lignified elements in the rhizome structure, sections were stained with a 0,1% paranitroaniline solution. Microscopic examination was performed using a Zeiss Axio Scope.A1 and "Micromed-6" at magnification ×25–400 in transmitted light (to identify the structural elements of tissues). The obtained images were recorded using a Zeiss AxioCam 512 color digital camera and a Micromed Visual SMP 9.7" visualization system.

During the general phytochemical analysis, water and water-ethanol extracts from the flowers and leaves of *B. sibirica* were studied using qualitative of the main groups of biologically active compounds (BAC) – flavonoids, tannins, saponins, polysaccharides, anthocyanins, coumarins – using generally accepted pharmacopoeial techniques [7]. The presence of alkaloids was determined using precipitation reagents: Wagner-Boucharde, Dragendorff, Mayer, Marquis, Scheibler, Bertrand, Sonnenschein, solutions of tannin and picric acid.

Total extractions were used for qualitative and quantitative analysis of the chemical composition of the raw materials by spectrophotometry. 70% ethanol (for extraction of hydroxycinnamic acids, flavonoids, and sum of chlorophylls), 2% aqueous solution of hydrochloric acid (for extraction of alkaloids and anthocyanins), and purified water (for extraction of tannins and polysaccharides) were used as extractants. An accurately weighed quantity of the raw material was placed in a flask, the extractant was added at the ratio of raw materials : extractant of 1:30, after which the flasks were heated under reflux for 30 min on a boiling water bath.

The qualitative composition of hydroxycinnamic acids was analyzed by thin-layer chromatography (TLC) in a battery of solvents of ethyl acetate : ethanol : water (200:27:22), using solutions of standard samples of caffeic, chlorogenic,

Для проведения качественного и количественного анализа химического состава сырья методом спектрофотометрии использовали суммарные извлечения. В качестве экстрагента для их получения были выбраны 70% этанол (для извлечения оксикоричных кислот, флавоноидов и суммы хлорофиллов), 2% водный раствор кислоты хлороводородной (для извлечения алкалоидов и антоцианов) и вода очищенная (для извлечения дубильных веществ и полисахаридов). Точную навеску сырья помещали в колбу, добавляли выбранный экстрагент в соотношении сырье : экстрагент – 1:30, после чего колбы с присоединенным обратным холодильником помещали на кипящую водяную баню и выдерживали в течение 30 минут.

Качественный состав оксикоричных кислот анализировали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе растворителей этилацетат:этанол:вода (200:27:22), при этом использовали растворы стандартных образцов кофейной, хлорогеновой, хинной, феруловой и галловой кислот. Хроматограммы просматривали в ультрафиолетовом (УФ) свете при длине волн 254 и 365 нм до и после проявления парами аммиака.

Спектры поглощения определяли на спектрофотометре СФ-56 (АО «ЛОМО», Санкт-Петербург, Россия) в диапазоне волн от 200 до 800 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Концентрацию растворов подбирали путем разведения исследуемых растворов соответствующими растворителями. Для количественного определения флавоноидов использовали метод дифференциальной спектрофотометрии, который основан на поглощении УФ-света хромогенным комплексом, образованным при взаимодействии извлечения с 2% раствором алюминия хлорида в 95% этаноле при длине волны 410 нм и известном коэффициенте экстинкции рутина [8]. Количественное определение суммы оксикоричных кислот, хлорофилла, антоцианов проводили спектрофотометрически по оптической плотности на характерном максимуме поглощения соответствующего вещества.

Количественное определение дубильных веществ проводили методом титрования в соответствии с ОФС «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» в пересчете на катехин. Содержание полисахаридов определяли гравиметрически [7].

quinic, ferulic and gallic acids. Chromatograms were viewed in ultraviolet (UV) light at wavelengths of 254 and 365 nm before and after ammonia exposure.

The absorption spectra were determined on an SF-56 spectrophotometer (LOMO JSC, St. Petersburg, Russia) at a wavelength range of 200–800 nm in a cell with thickness of an absorbing layer of 10 mm. The concentration of solutions was selected by diluting the studied solutions with appropriate solvents. For quantitative determination of flavonoids, differential spectrophotometry was used, which is based on the absorption of UV light by a chromogenic complex formed by the interaction of extraction with a 2% solution of aluminum chloride in 95% ethanol at a wavelength of 410 nm and a known extinction coefficient of rutin [8]. Quantitative determination of the sum of hydroxycinnamic acids, chlorophyll, and anthocyanins was carried out using spectrophotometry by absorbance at the characteristic absorption maximum of the corresponding substance.

Quantitative determination of tannins was carried out by titration in accordance with the General Pharmacopoeial Article “Determination of the content of tannins in medicinal plant raw materials and medicinal herbal products”. The content of polysaccharides was determined gravimetrically [7].

RESULTS AND DISCUSSION

Phytochemical analysis showed the similarity of the chemical composition of the leaves and reproductive shoots of *B. sibirica*. The main groups of BAS were found: polysaccharides, coumarins, alkaloids, polyflavan compounds (catechins), saponins, and flavonoids. The rhizomes were characterized by the absence of a positive testing for flavonoids. Presumably, all the studied parts of the plant contain alkaloids, as evidenced by positive reactions with tannin solution and Dragendorff reagent.

Using TLC, gallic, ferulic and ferulic acids were found in the reproductive shoots, leaves, and rhizomes of *B. sibirica*. The absorption spectra of ethanol extracts from leaves, reproductive shoots and rhizomes are similar in a pattern to the standard spectrum of ferulic acid (Fig. 2) with a characteristic absorption maximum at 325 nm. Therefore, quantitative determination of the content of hydroxycinnamic acids was carried out in terms of ferulic acid. The results of the study show that the largest content of hydroxycinnamic acids is extracted from flowers (2,86%), less – from leaves (2,02%) and rhizomes (1,35%).

Ferulic acid has anti-inflammatory, antiplatelet, antibacterial, and antitumor activity [10, 11]. The

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фитохимический анализ показал близость химического состава листьев и генеративных побегов б. сибирской. Были обнаружены основные группы биологически активных соединений: полисахариды, кумарины, алкалоиды, полифлавановые соединения (катехины), сапонины, флавоноиды. Корневища отличались отсутствием положительной реакции на флавоноиды. Предположительно во всех исследуемых частях растения содержатся алкалоиды, о чем свидетельствуют положительные реакции с раствором танина и реактивом Драгендорфа.

Методом ТСХ в составе генеративных побегов, листьев и корневищ б. сибирской обнаружены галловая и феруловая кислоты. Кривые спектров поглощения спиртовых извлечений из листьев, генеративных побегов и корневищ по характеру близки к спектру стандартного вещества феруловой кислоты (рис. 2) с характерным максимумом поглощения при 325 нм, поэтому количественное определение содержания оксикоричных кислот проводили в пересчете на феруловую кислоту. Результаты исследования показывают, что наибольшее количество оксикоричных кислот извлекается из цветков (2,86 %), меньшее – из листьев (2,02 %) и из корней (1,35 %).

Феруловая кислота обладает противовоспалительным, антиагрегантным, антибактериаль-

ными фармакологическими эффектами, феруловая кислота в основном обусловлена ее антиоксидантными свойствами.

Когда этанольный раствор хлорида алюминия (III) был добавлен к 70% этанольным экстрактам из листьев и цветков *B. sibirica*, возникновение окрашенных продуктов – хелатных комплексов было замечено, и bathochromic shift $\Delta = 35$ нм был отмечен на спектре поглощения (рис. 3, А). В то же время, максимум дифференциального спектра (хромогенного комплекса относительно спектра начальной экстракции) был замечен на длине волны 410 нм (рис. 3, В), что типично для рутина [12].

При изучении количественного содержания флавоноидов, было найдено, что наибольшее содержание из них было получено из репродуктивных побегов (0,31%) по сравнению с листьями (0,17%).

Основным пигментом, содержащимся в растениях, является хлорофилл, который, как ожидалось, отсутствовал в подземных органах, поскольку они не имеют фотосинтетической способности (рис. 4).

Количественное содержание хлорофиллов а и б было определено путем измерения оптической плотности экстрактов на длинах волн 644 и 662 нм и расчета содержания хлорофиллов с помощью формулы Холм-Веттштейна [13]. Содержание хлорофиллов а и б в листьях составляло 0,31% и 0,54%, а в репродуктивных побегах – 0,08% и 0,14%, соответственно, что вполне предсказуемо, поскольку листья являются основным фотосинтетическим органом растений.

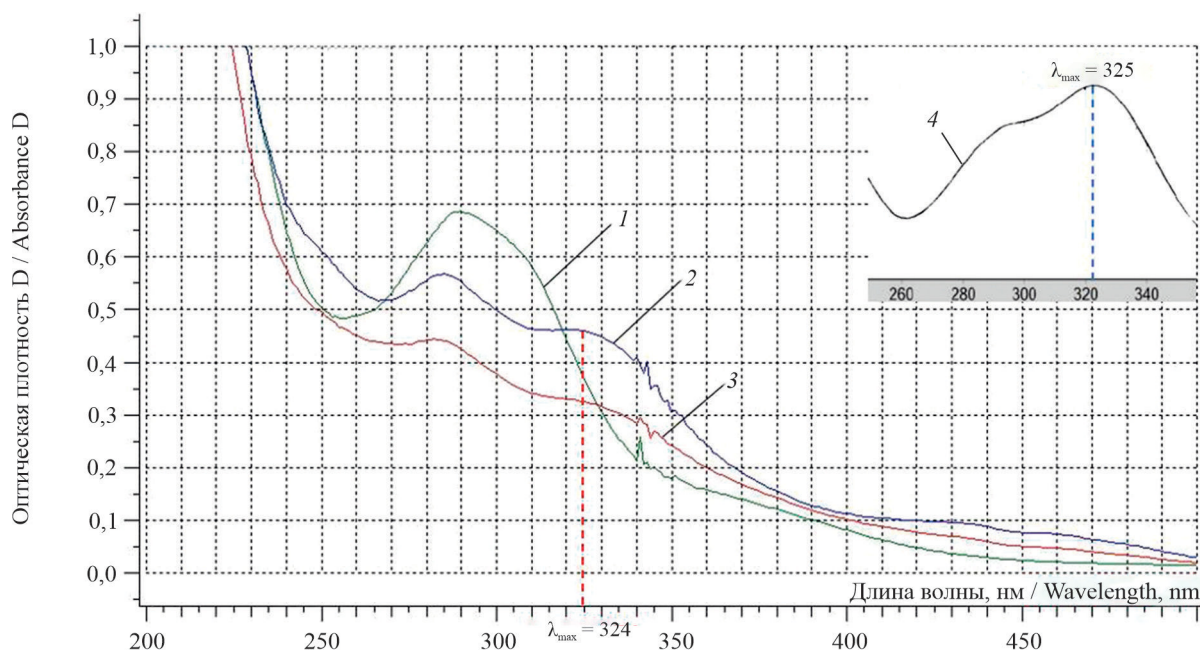


Рис. 2. Ультрафиолетовые спектры спиртовых извлечений из органов *B. Sibirica* (1 – корни; 2 – листья; 3 – генеративные побеги) в сравнении со спектром (4) феруловой кислоты [9]

Fig. 2. Ultraviolet spectra of *B. Sibirica* ethanol extracts (1 – rhizomes; 2 – leaves; 3 – reproductive shoots) in comparison with the spectrum of (4) ferulic acid [9]

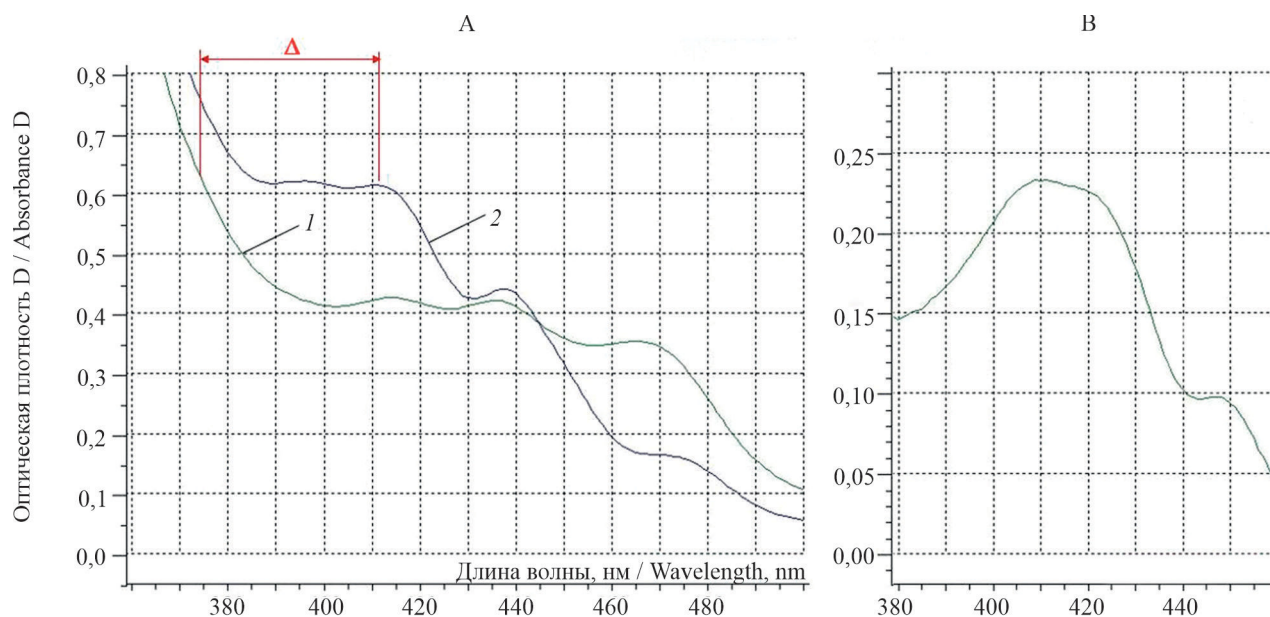


Рис. 3. Ультрафиолетовые спектры: А – спиртового извлечения из листьев *B. sibirica* (1 – исходное извлечение; 2 – хромогенный комплекс, образованный при взаимодействии исходного извлечения с AlCl_3 относительно экстрагента); В – дифференциальный спектр хромогенного комплекса относительно исходного извлечения (2–1)

Fig. 3. Ultraviolet spectra: А – ethanol extraction from leaves of *B. sibirica* (1 – initial extraction; 2 – chromogenic complex, formed because of the interaction of the initial extract with AlCl_3 relative to the extractant); В – differential spectrum of the chromogenic complex relative to the initial extraction (2–1)

ным, противоопухолевым действием [10, 11]. Фармакологические эффекты феруловой кислоты обусловлены в большей степени ее антиоксидантными свойствами.

При добавлении к 70% спиртовым извлечениям из листьев и цветков б. сибирской спиртового раствора алюминия хлорида (III) наблюдали образование окрашенных продуктов – хелатных комплексов, а на спектре поглощения – батохромный сдвиг $\Delta = 35$ нм (рис. 3, А). При этом максимум поглощения дифференциального спектра (хромогенный комплекс относительно спектра исходного извлечения) наблюдался при длине волны 410 нм (рис. 3, В), что характерно для рутина [12].

При исследовании количественного содержания флавоноидов было установлено, что наибольшее их количество извлекается из генеративных побегов (0,31 %) по сравнению с листьями (0,17 %).

Основным пигментом, содержащимся в растениях, является хлорофилл, который вполне естественно отсутствовал в подземных органах, так как они не имеют способности к фотосинтезу (рис. 4).

Количественное содержание хлорофиллов а и в определяли, измеряя оптическую плотность извлечения при длинах волн 644 и 662 нм и рас-

B. sibirica is characterized by the presence of other pigments, anthocyanins, in reproductive shoots. A characteristic maximum was found on the absorption spectrum at a wavelength of 520 nm (Fig. 5), corresponding to the spectrum of delphinidin [14], therefore, the quantitative content of anthocyanins (in percentage) was determined in terms of delphinidin-3-O-glycoside: it was 0,04%.

The qualitation confirmed the presence of condensed tannins in all types of the raw materials, their quantitative content was determined using the titrimetric method in terms of catechin: the largest content of condensed tannins is extracted with water from rhizomes – up to 7,17%, from leaves – up to 4,31%, from reproductive shoots – up to 3,92%.

The content of water-soluble polysaccharides in reproductive shoots was 4,84%, in leaves – 5,91%, in rhizomes – 12,91%.

Screening of the chemical composition of leaves, reproductive shoots and rhizomes of *B. sibirica* revealed the presence of substances that are important from the point of view of pharmacological activity, therefore, the next stage of our study was the identification of microdiagnostic signs of the plant studied.

Microscopic examination revealed that the whole plant is pubescent, which is characteristic of

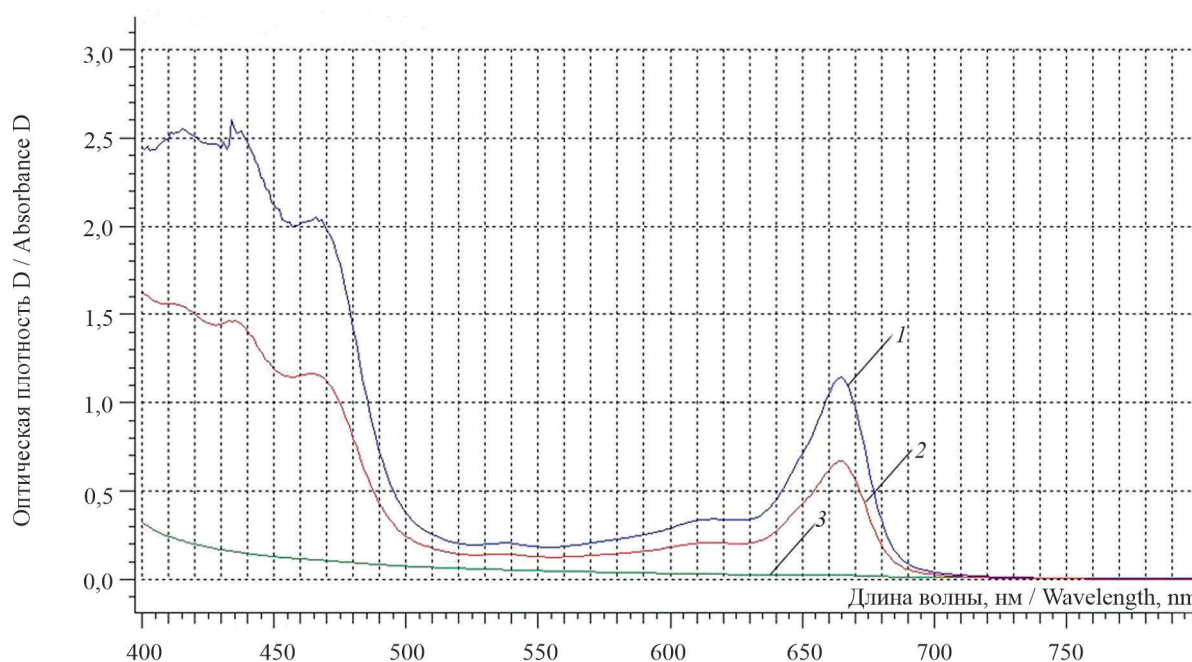


Рис. 4. Ультрафиолетовые спектры спиртового извлечения из органов *B. Sibirica*:

1 – из корней; 2 – из генеративных побегов; 3 – из листьев

Fig. 4. Ultraviolet spectra of *B. Sibirica* ethanol extractions:

1 – from roots; 2 – from reproductive shoots; 3 – from leaves

считывая содержание хлорофиллов по формуле Веттштейна [13]. Содержание хлорофиллов а и b в листьях составило 0,31 и 0,54 %, а в генеративных побегах – 0,08 и 0,14 % соответственно, что вполне закономерно, так как именно листья являются основным фотосинтезирующим органом растения.

Для б. сибирской характерно наличие и других пигментов – антоцианов – в генеративных побегах. На спектре поглощения обнаружен характерный максимум при длине волны 520 нм (рис. 5), соответствующий спектру дельфинидина [14], поэтому количественное содержание антоцианов (в %) определяли в пересчете на дельфинидин-3-О-гликозид: оно составило 0,04 %.

Качественной реакцией подтверждено присутствие во всех видах сырья конденсированных дубильных веществ, их количественное содержание определяли методом титриметрии в пересчете на катехин: наибольшее их количество извлекается водой из корневищ – до 7,17 %, из листьев – до 4,31 %, из генеративных побегов – до 3,92 %.

Содержание водорастворимых полисахаридов в генеративных побегах составило 4,84 %, в листьях – 5,91 %, в корневищах – 12,91 %.

Скрининг химического состава листьев, генеративных побегов и корневищ б. сибирской позволил выявить присутствие в составе исследуемых видов сырья важных с точки зрения фармаколо-

all plants in the *Boraginaceae* family. The pubescence is represented by simple conical-shaped unicellular hairs (Fig. 6, 7) with length of $250,0 \pm 34,0 \mu\text{m}$ and diameter of $70,0 \pm 12,2 \mu\text{m}$ at the base with a characteristic rosette of epidermal cells and a narrow cavity inside. The number of hairs is $6,3 \pm 1,4 \text{ pcs/mm}^2$.

The pronounced aerenchyma is placed on the abaxial side of the leaf (Fig. 8).

Stomatal apparatus is of anomocytic type (Fig. 9); length of guard cells is $33,0 \pm 5,4 \mu\text{m}$. The number of stomata is $160,0 \pm 24,0 \text{ pcs/mm}^2$.

The rhizome (Fig. 10) is characterized by the presence of the exodermis, i.e. the periderm with the straight-walled, tightly closed cells. The rhizome structure is characteristic for the secondary transitional structure of the stem of dicotyledonous plants. The sclerenchyma is poorly pronounced, the main volume of the rhizome is filled by the storage parenchyma.

CONCLUSION

The study performed allows to draw the following inferences:

1. Phytochemical analysis confirmed the similarity of the chemical composition of the leaves and reproductive shoots of *B. Sibirica*; the main groups of BAC were found: hydroxycinnamic acids, flavo-

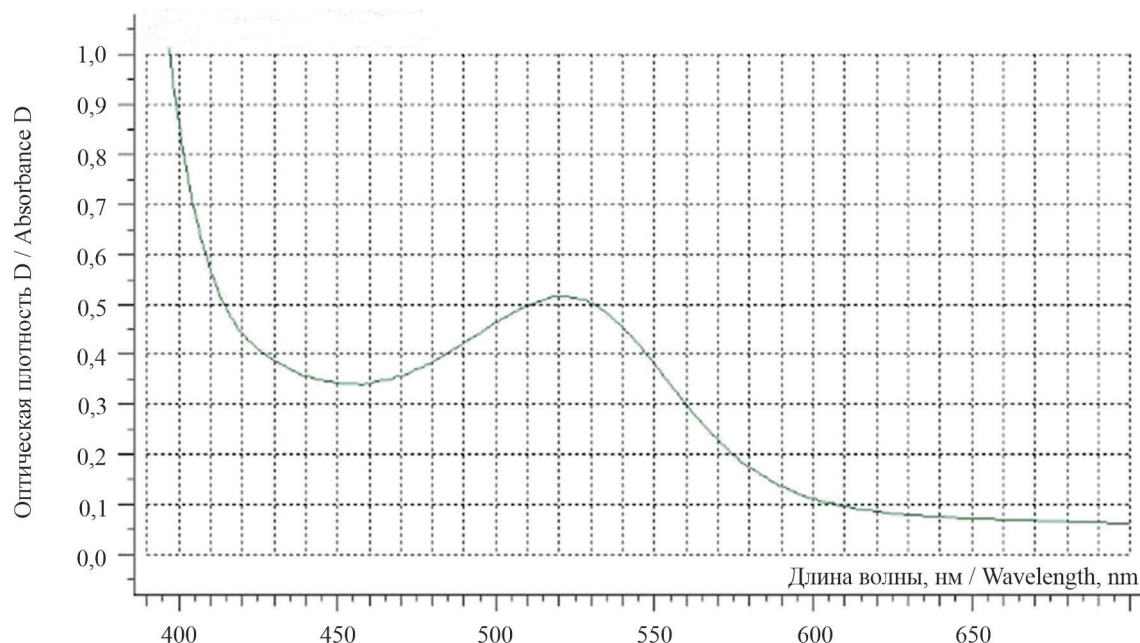


Рис. 5. Ультрафиолетовый спектр извлечения 2% раствором хлористоводородной кислоты из генеративных побегов *B. sibirica*

Fig. 5. Ultraviolet spectrum of extraction with 2% hydrochloric acid solution from reproductive shoots of *B. sibirica*

гической активности веществ, поэтому дальнейшим этапом работы стало определение микродиагностических признаков изучаемого вида.

В ходе микроскопического исследования установлено, что все растение опушено – данный признак является типичным для всех растений семей-

noids, polyflavan compounds, alkaloids, chlorophyll, saponins, coumarins. Rhizomes are characterized by the absence of flavonoids.

2. The highest content of the above mentioned active substances was detected in reproductive shoots. The obtained data on the chemical

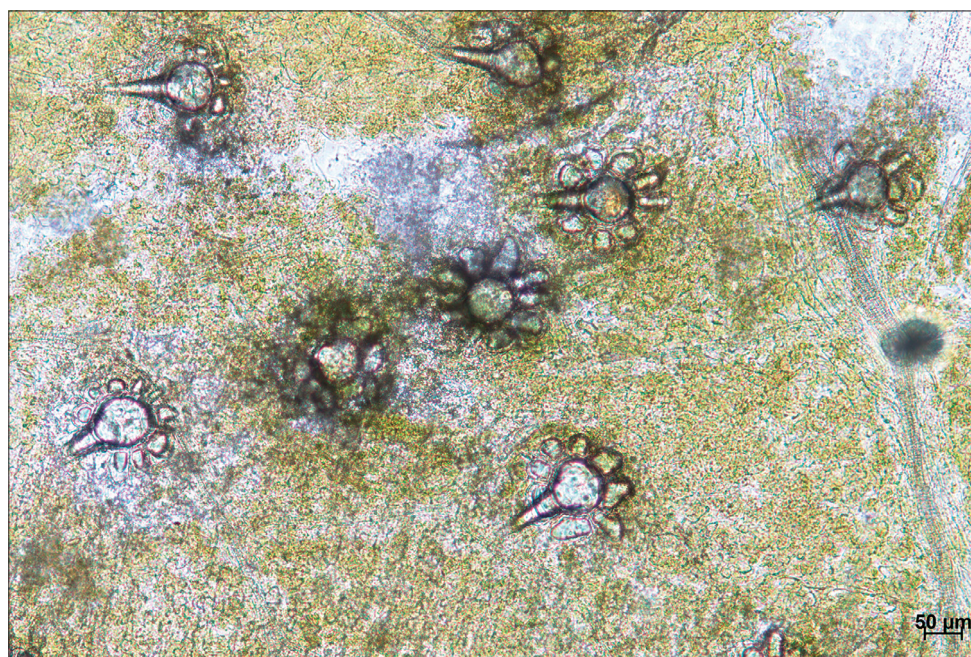


Рис. 6. Верхняя эпидерма листа с многочисленными простыми «кнопковидными» одноклеточными волосками
Fig. 6. The upper epidermis of the leaf with numerous simple button-shaped unicellular hairs

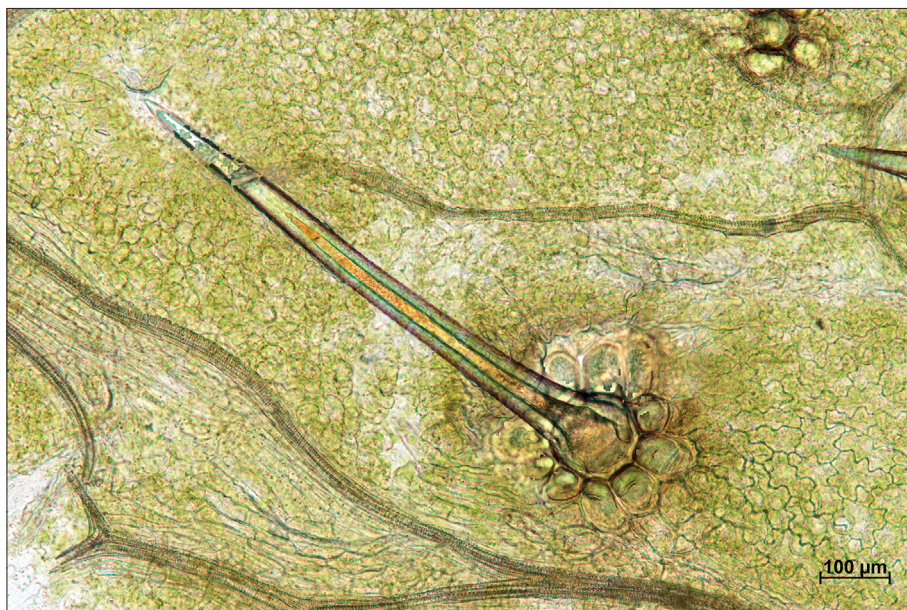


Рис. 7. Простой конический одноклеточный волосок
Fig. 7. The simple conical-shaped unicellular hair

ства *Boraginaceae*. Опушение представлено простыми коническими одноклеточными волосками (рис. 6, 7) длиной $250,0 \pm 34,0$ мкм и диаметром $70,0 \pm 12,2$ мкм у основания с характерной розеткой из эпидермальных клеток и с узкой полостью внутри. Количество волосков $6,3 \pm 1,4$ шт./мм².

На абаксиальной стороне листа присутствует выраженная аэренхима (рис. 8).

Устьичный аппарат аномоцитного типа (рис. 9), длина замыкающих клеток составляет

composition allow to consider *B. Sibirica* as a promising source of valuable BAC for medical practice.

3. Microdiagnostic signs that are need for identification of *B. Sibirica* were determined.

Acknowledgements. The authors are grateful to the Center for Collective Use of Microscopic Analysis of Biological Objects of the Russian Academy of Science, Siberian Branch (<http://www.bionet.nsc>).

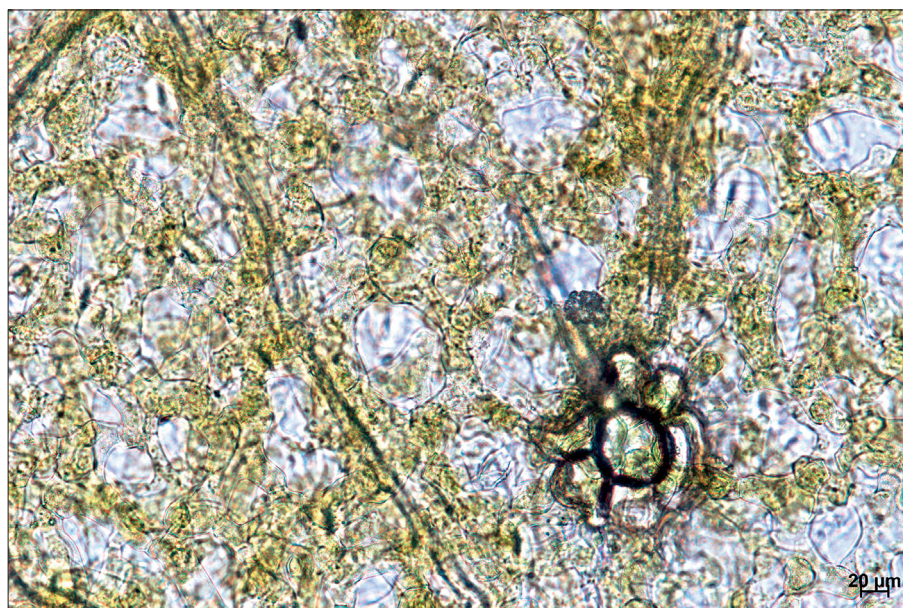


Рис. 8. Аэренхима на абаксиальной стороне листа
Fig. 8. The aerenchyma on the abaxial side of the leaf

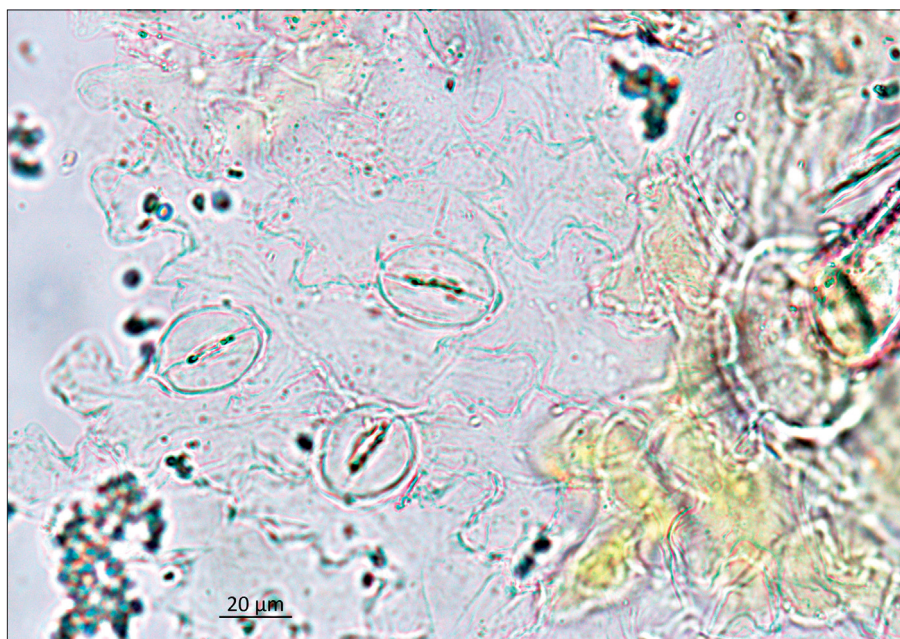


Рис. 9. Устьичный аппарат аномоцитного типа
Fig. 9. The anomocytic stomatal apparatus

$33,0 \pm 5,4$ мкм. Количество устьиц $160,0 \pm 24,0$ шт./мм².

Корневище (рис. 10) характеризуется наличием покровной ткани – перидермы, клетки которой прямостенные, плотно сомкнутые. Структура корневища характерна для вторичного переходного строения стебля двудольных растений. Склеренхима выражена слабо, основ-

но не выявлено. Работа выполнена на оборудовании (с предоставлением доступа к оборудованию) для оборудования, предоставленного, и к ведущему инженеру Центра Т.Е. Алышину за помощь в работе с оборудованием Центра.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

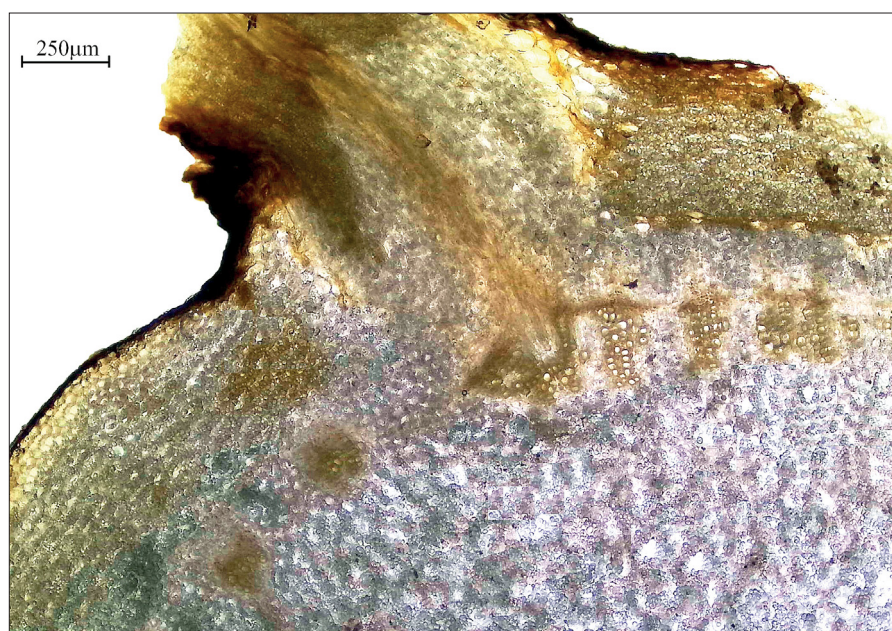


Рис. 10. Поперечный срез корневища
Fig. 10. Transversal section of the rhizome

ной объем корневища заполняет запасающая паренхима.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Фитохимический анализ подтвердил близость химического состава листьев и генеративных побегов б. сибирской; обнаружены основные группы БАС: оксикоричные кислоты, флавоноиды, полифлавановые соединения, алкалоиды, хлорофилл, сапонины, кумарины. Корневища отличаются отсутствием флавоноидов.

2. Наибольшее содержание исследованных групп действующих веществ отмечено в генеративных побегах. Полученные данные о химиче-

ском составе позволяют рассматривать б. сибирскую как перспективный источник ценных БАС для применения медицинской практике.

3. Установлены микродиагностические признаки, определяющие подлинность б. сибирской.

Благодарности. Авторы благодарны Центру коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН (<https://ckp.icgen.ru/ckpmabo/>) за предоставленное оборудование и ведущему инженеру центра Т.Е. Алешиной за помощь при работе на оборудовании центра.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Brunnera sibirica* Steven. Royal Botanic Gardens Kew. Plants of the World Online. URL: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:113717-1> (дата обращения: 22.05.2025).
2. Депозитарий живых систем. Растения. Коллекции. Атлас флоры России. URL: <https://plant.depo.msu.ru/open/public/search?collection=ATLAS> (дата обращения 09.01.2025).
3. Круглов Д.С. Сравнительный кластерный анализ микроэлементного состава брунеры сибирской и медуницы мягкой // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. трудов; Пятигорская ГФА. Пятигорск, 2011. Вып. 66. С. 128–130.
4. Ямских И.Е., Куцев М.Г. Морфолого-генетический анализ ценопопуляций *Brunnera sibirica* (Boraginaceae) в горах Южной Сибири // Сибирский экологический журнал. 2017;24(1):51–60. DOI: 10.15372/SEJ20170106.
5. Амельченко В.П. Редкие и исчезающие растения Томской области (анатомия, биоморфология, интродукция, реинтродукция, кариология, охрана). Томск: Изд-во ТГУ, 2010. 238 с.
6. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность / отв. ред. А.Л. Буданцев. СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. Т. 4: Семейства Caprifoliaceae – Lobeliaceae. 630 с.
7. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (дата обращения: 22.05.2025).
8. Зверобоя трава *Hyperici herba*. ФС.2.5.0015.15 // Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/2/2-5/zveroboya-trava-hyperici-herba/> (дата обращения: 22.05.2025).
9. Степнова И.В. Фармакогностическое изучение горюхи ястребинковой (*Picris hieracioides* L.): дис. ... канд. фармфевт. наук: 14.04.02. Курск, 2019. 193 с.

REFERENCES

1. *Brunnera sibirica* Steven. Royal Botanic Gardens Kew. Plants of the World Online. URL: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:113717-1> (accessed 22.05.2025).
2. Depository of Live Systems. Plants. Collections. Atlas of the Russian Flora. URL: <https://plant.depo.msu.ru/open/public/search?collection=ATLAS> (accessed 09.01.2025).
3. Kruglov D.S. (2011). Comparative cluster analysis of the microelement composition of *Brunnera sibirica* and *Pulmonaria mollis*. In Development, Research and Marketing of New Pharmaceutical Products: collection of scientific papers. Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy. Pyatigorsk. Is. 66. P. 128–130. (In Russ.)
4. Yamskikh I.E., Kutsev M.G. Morphogenetic analysis of *Brunnera sibirica* (Boraginaceae) coenopopulations in the mountains of South Siberia. *Sibirskij Ekologicheskij Zhurnal*. 2017;24(1):51–60. DOI: 10.15372/SEJ20170106. (In Russ.)
5. Amelchenko V.P. (2010). Rare and Endangered plants of the Tomsk Region (Anatomy, Biomorphology, Introduction, Reintroduction, Karyology, Protection). Tomsk: Publishing of Tomsk State University. 238 p. (In Russ.)
6. Budantsev A.L. (ed.) (2011). Plant Resources of Russia: Wild Flowering Plants, Their Composition and Biological Activity. St. Petersburg; Moscow. Vol. 4: Caprifoliaceae–Lobeliaceae Families. 630 p. (In Russ.)
7. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th ed. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (accessed 22.05.2025).
8. *Hyperici herba*. Pharmacopoeial Article.2.5.0015.15. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th ed. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/2/2-5/zveroboya-trava-hyperici-herba/> (accessed 22.05.2025).
9. Stepsnova I.V. (2019). Pharmacognostic study of *Picris hieracioides* L. Cand. Sci. (Pharmaceut.) thesis 14.04.02. Kursk. 193 p. (In Russ.)
10. Zduńska K., Dana A., Kolodziejczak A., Rotsztein H. Antioxidant properties of ferulic acid and its possible

10. Zduńska K., Dana A., Kolodziejczak A., Rotsztein H. Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application // *Skin Pharmacol. Physiol.* 2018;31(6):332-336. DOI: 10.1159/000491755.
11. Stompor-Gorący M., Machaczka M. Recent advances in biological activity, new formulations and prodrugs of ferulic acid // *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(23):12889. DOI: 10.3390/ijms222312889.
12. Марахова А.И., Сорокина А.А., Станишевский Я.М. Применение принципа сквозной стандартизации в анализе флавоноидов травы пустырника и препаратов на его основе // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2016;1(14):150-154.
13. Мазец Ж.Э., Жукова И.И., Деревинская А.А. Практикум по физиологии растений. Минск: БГПУ, 2017. 176 с.
14. Круглов Д.С., Ильиных А.В., Шилова И.В. Определение антоцианов в плодах черники и голубики методом рН-дифференциальной спектрофотометрии // *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. трудов / Пятигорская ГФА. Пятигорск, 2008. Вып. 63. С. 282–284.*
- application. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2018;31(6):332-336. DOI: 10.1159/000491755.
11. Stompor-Gorący M., Machaczka M. Recent advances in biological activity, new formulations and prodrugs of ferulic acid. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(23):12889. DOI: 10.3390/ijms222312889.
12. Marakhova A.I., Sorokina A.A., Stanishevskiy Ya.M. Application of through standardization principle in the analysis of flavonoids motherwort (*Leonurus, l.*) herb and it's preparation. *Drug Development & Registration.* 2016;1(14):150-154. (In Russ.)
13. Mazets Sh.E., Zhukova I.I., Derevinskaya A.A. (2017). Practical Course on Plant Physiology. Minsk. 176 p. (In Russ.)
14. Kruglov D.S., Ilinykh A.V., Shilova I.V. (2008). Determination of anthocyanins in fruits of bilberry and blueberry by pH-differential spectrophotometry. In Development, Research and Marketing of New Pharmaceutical Products: collection of scientific papers. Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy. Pyatigorsk. Is. 63. P. 282–284. (In Russ.)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Величко Виктория Владимировна – канд. фармацевт. наук, заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID: 0000-0002-9224-9350.

Круглов Дмитрий Семенович – канд. техн. наук, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID: 0000-0003-1904-7901.

Прокушева Дарья Леонидовна – канд. фармацевт. наук, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID: 0009-0009-0480-2311.

Ким Надежда Олеговна – канд. фармацевт. наук, доцент кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID: 0000-0003-0683-0833.

ABOUT THE AUTHORS

Victoria V. Velichko – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Head, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University. ORCID: 0000-0002-9224-9350.

Dmitry S. Kruglov – Cand. Sci. (Tech.), Associate Professor, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University. ORCID: 0000-0003-1904-7901.

Daria L. Prokusheva – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University. ORCID: 0009-0009-0480-2311.

Nadezhda O. Kim – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Departments of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University. ORCID: 0000-0003-0683-0833.