

*Michał Milek¹, Małgorzata Dżugan¹, Wojciech Litwińczuk²

Analiza zawartości berberyny w owocach różnych gatunków berberysu (*Berberis* sp.) metodą wysokosprawnej chromatografii cienkowarstwowej (HPTLC)

The analysis of berberine content in the fruits of various species of barberry (*Berberis* sp.) by high performance thin-layer chromatography (HPTLC)

¹Zakład Chemii i Toksykologii Żywności, Instytut Technologii Żywności i Żywienia, Uniwersytet Rzeszowski

Dyrektor Instytutu: dr hab. inż. Grzegorz Zaguła, prof. UR

²Zakład Fizjologii i Biotechnologii Roślin, Instytut Nauk Rolniczych, Ochrony i Kształtowania Środowiska, Uniwersytet Rzeszowski

Dyrektor Instytutu: prof. dr hab. Krzysztof Kukuła

SUMMARY

Introduction. Plants of the *Berberis* genus are a source of isoquinoline alkaloids with multifaceted pharmacological effects. The main alkaloid of barberry is berberine, used to lower blood pressure and blood sugar levels, showing antimicrobial, anti-inflammatory and anticancer effects. The commonly used raw material is the bark and root of common barberry, but this alkaloid is also present in other morphological parts of plants of the *Berberis* genus.

Aim. The aim of the study was to assess the content of berberine in the fruits of selected species and varieties of barberry using the HPTLC method.

Material and methods. The fruits were obtained from 6 cultivated varieties of Japanese barberry (*Berberis thunbergii*), Korean barberry (*B. koreana*) and common barberry (*B. vulgaris*). Berberine content was analyzed using high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) using berberine sulfate as for calibration.

Results. Berberine content determined in the tested fruits varied by species. The lowest level for *B. vulgaris* (1-5.5 mg/100 g), higher for *B. koreana* (1-21 mg/100 g), and the highest for *B. thunbergii* from up to 78 (Red Rocket variety) to over 300 mg/100 g (Golden Carpet variety) were determined.

Conclusions. Due to their greater availability, the fruits of ornamental *B. thunbergii* varieties can be used as a potential raw material for obtaining berberine in the pharmaceutical industry and the production of dietary supplements.

Keywords: ornamental barberry, berberine, HPTLC

STRESZCZENIE

Wstęp. Rośliny z rodzaju *Berberis* są źródłem alkaloidów izochinolinowych wykazujących wielokierunkowe działanie farmakologiczne. Głównym alkaloidem berberysu jest berberyna, stosowana do obniżania ciśnienia i poziomu cukru we krwi, wykazująca efekt przeciwdrobnoustrojowy, przeciwzapalny i przeciwnowotworowy. Powszechnie stosowanym surowcem jest kora i korzeń berberysu zwyczajnego, jednak alkaloid ten jest obecny też w innych częściach morfologicznych wielu gatunków berberysu.

Cel pracy. Celem badań była ocena zawartości berberyny w owocach wybranych gatunków i odmian berberysu.

Materiał i metody. Owoce pozyskano z 6 odmian uprawnych berberysu pochodzącego z Japonii (*Berberis thunbergii*), berberysu koreańskiego (*B. koreana*) oraz zwyczajnego (*B. vulgaris*). Zawartość berberyny analizowano metodą wysokosprawnej chromatografii cienkowarstwowej (HPTLC) z użyciem siarczanu berberyny jako wzorca.

Wyniki. Zawartość berberyny oznaczona w badanych owocach wahała się od bardzo małych ilości w przypadku *B. vulgaris* i *B. koreana* (1-21 mg/100 g) do ponad 300 mg/100 g w przypadku *B. thunbergii* Golden Carpet. Wszystkie odmiany ozdobnego berberysu *Thunberga* zawierały ponad 78 mg berberyny w 100 g owoców.

Wnioski. Owoce ozdobnych odmian *B. thunbergii* mogą być dobrym źródłem berberyny i znaleźć zastosowanie jako surowiec zielarski do pozyskiwania berberyny w przemyśle farmaceutycznym.

Słowa kluczowe: berberyna, berberys, HPTLC

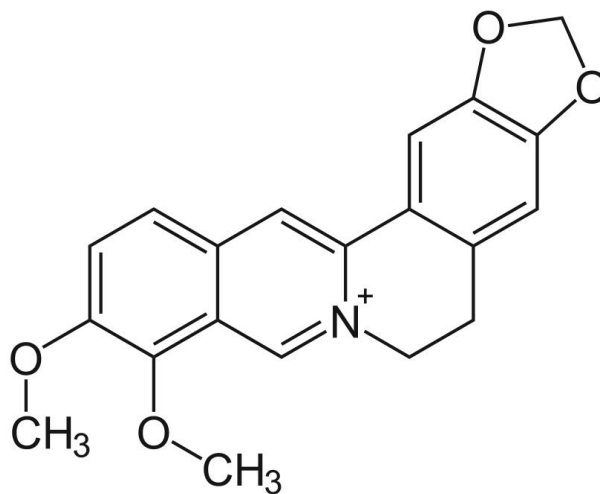
Wprowadzenie

Rodzaj berberys (*Berberis* L.) obejmuje co najmniej 450 gatunków krzewów liściastych z rodziny berberysowatych (*Berberidaceae* Juss.) rozpowszechnionych w Europie, Ameryce Północnej oraz Azji (1-3). Rośliny z rodzaju *Berberis* charakteryzują się zróżnicowaną barwą liści, żółtymi kwiatami i drewnem oraz przeważnie czerwonymi owocami typu jagód (2). Tylko jeden gatunek – berberys zwyczajny (*B. vulgaris* L.) – rośnie dziko w Polsce. Jest on również pospolity w Europie, Afryce Północnej, na Bliskim Wschodzie i w Azji Środkowej (2). Berberys zwyczajny nie ma jednak większego znaczenia w ogrodnictwie (ani jako alternatywna uprawa), ponieważ jest bardzo podatny na choroby grzybowe, w tym rdzę i mączniaka prawdziwego. Co więcej, jest głównym żywicielem grzyba z gatunku *Puccinia graminis* Pers., który powoduje chorobę zbóż zwaną rdzą łodyg zbóż i traw (4, 5). Inne gatunki berberysu są odporne na te choroby, stąd stały się bardziej popularne jako krzewy ozdobne. Należy do nich pochodzący z Japonii berberys *Thunberga* (*B. thunbergii* DC.) (3). Dużą popularność w nasadzeniach ozdobnych zawdzięcza wielości odmian o zróżnicowanej morfologii liści, które mogą mieć różne odcienie i kombinacje barwy żółtej, zielonej i czerwonej. Do innych gatunków uprawianych jako ozdobne należą np.: berberys koreański (*B. koreana* Palib.), berberys chiński (*B. chinensis* Poir.), berberys Julianny (*B. julianae* C.K. Schneid.) czy berberys bukszpanolistny (*B. microphylla* G. Forst.), a także hybrydy międzygatunkowe, takie jak berberys ottawski (*Berberis* × *ottawensis* Schneid.), który powstał w wyniku skrzyżowania berberysu pospolitego i japońskiego (3).

Berberys zwyczajny i inne gatunki roślin z rodzaju *Berberis* są uznawane za typowe surowce alkaloidowe. Badania fitochemiczne wykazały obecność ponad 100 różnych metabolitów wtórnych, nie tylko z grupy alkaloidów, ale także flawonoidów, antocyjanin, fenoli, karotenoidów i witamin (1, 6). Dominującymi metabolitami są alkaloidy izochinolinowe oraz bisbenzyloizochinolinowe, część z nich otrzymała nazwy od

nazwy rodzajowej rośliny. Do głównych alkaloidów berberysu zalicza się: berberynę, berbaminę, palmatynę, oksyberberynę, izokorydynę, lambertynę, jatrorizynę, tetrandrynę czy chondokurynę (2, 7).

Berberyna (ryc. 1) – kationowy, czwartorzędowy alkaloid izochinolinowy – stanowi główny metabolit wtórny berberysu, a jej zawartość w poszczególnych organach rośliny osiąga nawet do 1,5-2% (8). Źródłem berberyny mogą być też inne gatunki roślin, głównie z rodzin: *Annonaceae*, *Papaveraceae*, *Menispermaceae*, *Ranunculaceae* i *Rutaceae* (9). Berberyna, obok działania antyoksydacyjnego i przeciwdrobnoustrojowego, wykazuje również działanie immunomodulacyjne, kardioprotekcyjne, hepatoprotekcyjne i renoprotekcyjne (9, 10). Jest stosowana w chorobach układu krążenia i układu pokarmowego, cukrzycy i problemach skórnych. Zidentyfikowano kilka mechanizmów działania przeciwnowotworowego tego alkaloidu (9, 11, 12). Duże nadzieje wiąże się z jego zastosowaniem w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych (13, 14). Jako substancja pochodzenia naturalnego berberyna uznawana jest za bezpieczny składnik suplementów diety, polecany w walce z otyłością, cukrzycą i problemami trawiennymi (15, 16). Rosnące zapotrzebowanie sprawia, że trwają poszukiwania alternatywnych źródeł



Ryc. 1. Wzór chemiczny berberyny

berberyny, podejmowane są również próby jej syntezy oraz poszukiwania analogów o potencjalnej aktywności farmakologicznej (17-21). Użytecznym źródłem berberyny może być berberys Thunberga, a także inne gatunki uprawiane w celach dekoracyjnych. Dostępne dane literaturowe wskazują, że ekstrakty korzeni berberysu japońskiego zawierają więcej berberyny niż ekstrakty z berberysu zwyczajnego, niższe są w nich za to stężenia palmatyny i berbaminy (3).

Cel pracy

Celem pracy była ocena zawartości berberyny w owocach wybranych odmian berberysów ozdobnych w porównaniu z owocami *B. vulgaris*, a także ocena przydatności wysokosprawnej chromatografii cienkowarstwowej (HPTLC) jako szybkiej metody oznaczania berberyny w surowcach zielarskich.

Materiał i metody

Materiał roślinny

Próbki owoców berberysu pobrano z 7-letnich krzewów berberysu (*Berberis* sp.) z prywatnej kolekcji Szkółki Drzew i Krzewów Ozdobnych Wiesława Więcka (Stobierna, Podkarpackie) na przełomie września i października 2021 roku. Wśród zebranych próbek były owoce gatunku *Berberis koreana* (nieznanej odmiany), a także *B. thunbergii* (odmiany: Golden Carpet, Atropurpurea, Atropurpurea Nana, Red Pilar, Red Rocket oraz PowWow) (ryc. 2a, b). Do celów porównawczych pozyskano dwie próbki owoców *B. vulgaris*, jedną ze stanowiska naturalnego (Góry Pieprzowe koło Sandomierza), a drugą (owoce suszone) zakupiono w sprzedaży internetowej (Zakład Konfekcjonowania Ziół FLOS Elżbieta i Jan Głęb s.j.). Świeże owoce, po zamrożeniu w temp. -60°C, poddano liofilizacji (Alpha 1-2 LD plus, Martin Christ) i do czasu analiz przechowywano w eksykatorze (do 6 miesięcy).

Ekstrakcja

Ekstrakty z owoców berberysu przygotowano na podstawie zmodyfikowanej metodyki opisanej przez Alam i wsp. (22). Zmielone liofilizowane



Ryc. 2a, b. Fotografie wybranych surowców bezpośrednio po zbiorze: A – *B. koreana* NN, B – *B. thunbergii* PowWow

owoce (5 g) zalano 25 ml 70% etanolu (Stanlab) i ekstrahowano w łaźni ultradźwiękowej (Sonic-10, Polsonic) w dwóch cyklach (20 minut, temperatura nieprzekraczająca 50°C). Ekstrakty przefiltrowano przez bibułę filtracyjną i do czasu analiz przechowywano w temperaturze 4°C.

Analiza zawartości berberyny

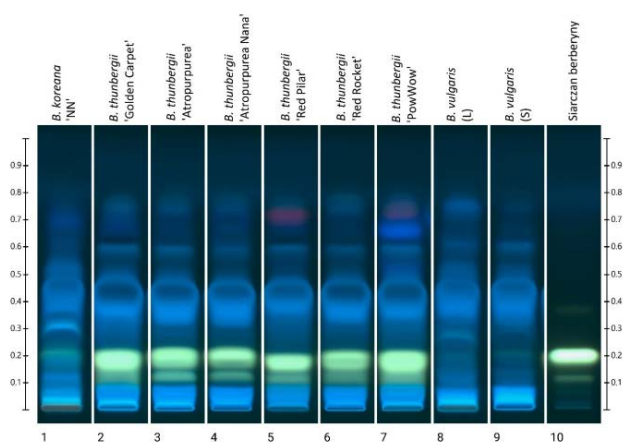
Zawartość berberyny w ekstraktach oceniano metodą HPTLC zgodnie ze zmodyfikowaną procedurą Alam i wsp. (22). Ekstrakty w objętości 2 μ l наносzono na płytki szklane HPTLC Silica Gel 60 F254 (20 $\times$ 10 cm, Merck, nr kat. 1.05642) za pomocą automatycznego aplikatora Linomat 5 (Camag). Chromatogram rozwijano za pomocą fazy ruchomej składającej się z n-propanolu, kwasu mrówkowego i wody (90:1:9, v/v/v) w automatycznej komorze rozwijającej (ADC2, Camag). Po rozwinięciu płytkę sfotografowano w świetle UV 366 nm za pomocą urządzenia TLC Visualizer (Camag). Analizę ilościową wykonano w oparciu o krzywą standardową dla siarczanu berberyny (99%; Medicaline) w postaci metanolowego roztworu o stężeniu 250 μ g/ml (nanoszone objętości od 2 do 8 μ l, tj. 0,5 do 2 μ g na pasmo). Na podstawie wyznaczonej powierzchni pików chromatogramów wygenerowanych przez oprogramowanie (Vision CATS, Camag) na podstawie intensywności fluorescencji pasm skonstruowano krzywą wzorcową dla siarczanu berberyny ($y = (2,812 \times 10^{-2}x)/(5,958 \cdot 10^{-7} + x)$, $R^2 = 0,9906$). Każdą analizę wykonano w trzech powtórzeniach. Wyniki przedstawiono jako wartość średnia $\pm$ odchylenie standardowe. Istotność różnic oceniono przy pomocy jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA i testu *post hoc* Tukeya w programie Statistica 13.1 (Statsoft).

Wyniki i dyskusja

Zawartość berberyny oznacza się przeważnie metodą HPLC lub UHPLC, w niniejszej pracy podjęto próbę uproszczenia analizy poprzez wprowadzenie metody HPTLC. Jest ona prostsza i mniej kosztowna od wyżej wymienionych technik chromatografii cieczowej, ponadto możliwość jednoczesnego porównania nawet do 20 próbek sprawia, że znajduje ona coraz częstsze zastosowanie, zwłaszcza we wstępnych badaniach przesiewowych, pozwala na równoczesną analizę porównawczą kilkunastu próbek i była stosowana do analizy różnych surowców farmaceutycznych, w tym materiałów roślinnych zawierających berberynę (23-26). Wyniki rozdzielu ekstraktów z testowanych owoców berberysu metodą wysokosprawnej chromatografii cienkowarstwowej (HPTLC) przedstawia rycina 3. Obraz płytki

chromatograficznej zwizualizowanej w nadfiolecie (długość fali 366 nm) charakteryzuje się intensywnie żółtą fluorescencją pasm odpowiadających alkaloidom izochinolinowym, z głównym składnikiem berberyną, której pasmo widoczne jest przy wartości $R_f = 0,20$. Identyfikacji głównego metabolitu dokonano w oparciu o identyczny R_f wyznaczony dla wzorca – siarczanu berberyny. Pasma berberyny posiadało zróżnicowaną intensywność w zależności od badanej próbki, w ekstraktach owoców berberysu koreańskiego oraz berberysu zwyczajnego było bardzo słabo widoczne, inaczej niż dla berberysu Thunberga. Obok pasma odpowiadającego berberynie można zaobserwować dodatkowe żółte pasmo przy $R_f = 0,13$, pochodzące od innego alkaloidu. Porównanie z danymi literaturowymi sugeruje, że może to być palmatyna (23) lub pochodna berberyny. Podobny obraz, z dodatkowym żółtym pasmem poniżej głównego pasma berberyny (także w przypadku substancji wzorcowej), uzyskali Andola i wsp. (24). Pozostałe pasma o innej niż żółta barwie pochodzą od innych składników fitochemicznych obecnych w ekstraktach, zapewne polifenoli. Charakterystyczne czerwone pasma przy wysokich wartościach R_f , obserwowane w próbkach odmian Red Pilar i PowWow, odpowiadają związkom z grupy karotenoidów. Rozmycie pasm na płycie HPTLC wynika z obecności cukrów, które nie były usuwane z ekstraktów.

Przekształcenie obrazu płytki chromatograficznej do postaci klasycznego chromatogramu za pomocą dedykowanego oprogramowania umożliwia analizę ilościową. Na podstawie krzywej wzorcowej wyznaczonej dla wzorca – siarczanu berberyny naniesionej na płytkę w zakresie stężeń (0,5-2 μ g) obliczono

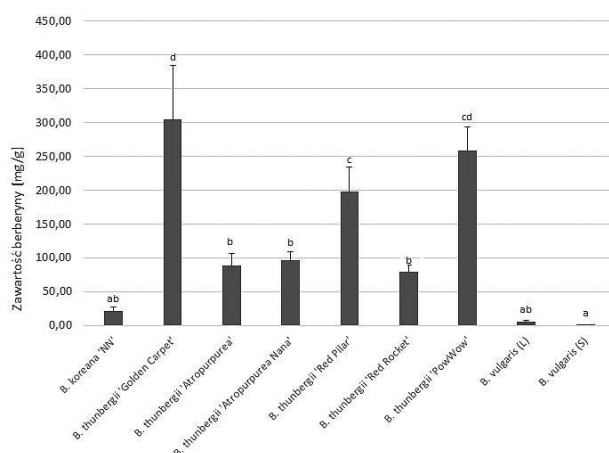


Ryc. 3. Obraz płytki chromatograficznej z rozdzielu ekstraktów owoców berberysu (ścieżki 1-9) oraz wzorcowego siarczanu berberyny (ścieżka 10). Oznaczenia przy próbkach *B. vulgaris*: (L) – liofilizowany, (S) – suszony, dla pozostałych gatunków owoce liofilizowane

zawartość berberyny w ekstraktach. Wyniki przedstawiono na rycinie 4.

Badane ekstrakty można podzielić na 3 grupy: o bardzo niskiej, średniej oraz wysokiej zawartości berberyny. Niską, wręcz śladową, zawartość berberyny wykazywały owoce *B. vulgaris* i *B. koreana* – dla liofilizowanych i suszonych owoców berberysu zwyczajnego odpowiednio 5,46 i 1 mg/100 g, co może wskazywać na niekorzystny wpływ obróbki termicznej. Dla berberysu koreańskiego stężenie alkaloidu wyniosło 21 mg/100 g owoców. W grupie ekstraktów o średniej zawartości głównego alkaloidu znalazły się odmiany berberysu japońskiego: *Atropurpurea*, *Atropurpurea Nana* i *Red Rocket*, dla których stężenie wyniosło od 78,91 do 95,95 mg/100 g owoców. Najwyższą zawartością berberyny odznaczały się trzy pozostałe odmiany *B. thunbergii*: *Red Pilar* (197,38 mg/100 g), *PowWow* (258,44 mg/100 g) i *Golden Carpet* (304,5 mg/100 g). Metodę HPTLC stosowano wcześniej z powodzeniem do oznaczania berberyny w innych częściach roślin z rodzaju *Berberis* (23, 24, 26), gdzie wykazano, że uzyskiwane wyniki są porównywalne z innymi metodami.

Tymczasem literatura naukowa podaje niewiele danych dotyczących zawartości berberyny w owocach berberysu, które są niezwykle zróżnicowane. Z jednej strony dostępne są dane o nieprawdopodobnie wysokiej zawartości berberyny w owocach berberysu zwyczajnego (5,2-7,7%) (27), z drugiej – alkaloidu tego w ogóle nie wykryto w owocach tego samego gatunku, niezależnie od pochodzenia geograficznego (28). Dla innych gatunków berberysu raportowana zawartość berberyny w owocach kształtowała się w przedziale od 0,0089-0,033% (co odpowiada 8,9-33 mg/100 g) w przypadku *B. aristata* (29)



Ryc. 4. Zawartość berberyny w ekstraktach analizowanych owoców berberysu. Wyniki przedstawiono jako średnia z trzech powtórzeń $\pm$ odchylenie standardowe. Litery nad słupkami oznaczają istotność różnic, wyznaczoną testem Tukeya ($p = 0,05$). Oznaczenia przy próbkach *B. vulgaris*: (L) – liofilizowany, (S) – suszony, pozostałe liofilizowane

do 0,3-0,34% (300-340 mg/100 g) w przypadku *B. asiatica* i *B. petiolaris* (30). W dostępnej literaturze brakuje danych dotyczących zawartości alkaloidów w owocach *B. thunbergii*, jednak obecność kilku związków z tej grupy (w tym berberyny) w owocach i nasionach tego gatunku opisano już w 1980 roku (31). Uzyskane w prezentowanych badaniach wyniki pozwalają klasyfikować owoce berberysu Thunberga na podobnym poziomie pod względem zawartości berberyny co wspomniane wyżej owoce gatunków *B. asiatica* i *B. petiolaris*. Jest to także ilość porównywalna z zawartością tego alkaloidu w korzeniach *B. thunbergii*, która według Villinski i wsp. (32) wynosi 0,43% (430 mg/100 g). Biorąc pod uwagę wysoką zawartość innych składników fitochemicznych, w tym: flawonoidów, antocyjanin i witaminy C w owocach berberysu ozdobnego (2), można uznać je za cenne źródło berberyny dla przemysłu farmaceutycznego

czy produkcji suplementów diety. Krzewy różnych odmian *B. thunbergii* są powszechnie uprawiane dla celów dekoracyjnych, stąd duża dostępność tego cennego surowca.

Podsumowanie

Analiza zawartości berberyny w owocach wybranych gatunków i odmian berberysu pozwoliła ustalić, że owoce odmian ozdobnych berberysu Thunberga (*B. thunbergii*) są bogatszym źródłem tego alkaloidu niż owoce berberysu koreańskiego i zwyczajnego. Potwierdzono także przydatność metody HPTLC w analizie ilościowej alkaloidów pirolizydynowych w badanym surowcu zielarskim. Uzyskane wyniki pozwalają proponować wykorzystanie owoców berberysu japońskiego jako źródła berberyny dla przemysłu farmaceutycznego. Wymaga to jednak opracowania skutecznej metody izolacji alkaloidu z badanego materiału.

Piśmiennictwo

- Sobhani Z, Akaberi M, Amiri MS i wsp. Medicinal Species of the Genus Berberis: A review of their traditional and ethnomedicinal uses. *Phytochem Pharmacol. Adv Exp Med Biol* 2021; 1308:547-77.
- Salehi B, Selamoglu Z, Sener B i wsp. Berberis Plants – Drifting from farm to food applications, phytotherapy, and phytopharmacology bahare. *Foods* 2019; 8:522.
- Och A, Orzechowska K. Berberys Thunberga (*Berberis thunbergii* DC.) jako mało znany w farmacji przedstawiciel rodzaju *Berberis* L. – skład chemiczny, aktywność biologiczna i perspektywy zastosowania. *Farm Pol* 2023; 79(10):635-47.
- Wang MN, Wan AM, Chen XM. Barberry as alternate host is important for *Puccinia graminis* f. sp. Triticum but not for *Puccinia striiformis* f. sp. Triticum in the U.S. Pacific Northwest. *Plant Dis* 2015; 99(11):1507-16.
- Villegas D, Bartaula R, Cantero-Martínez C i wsp. Barberry plays an active role as an alternate host of *Puccinia graminis* in Spain. *Plant Pathol* 2022; 71(5):1174-84.
- Mokhber-Dezfuli N, Saeidnia S, Gohari AR, Kurepaz-Mahmoodabadi M. Phytochemistry and pharmacology of berberis species. *Pharmacogn Rev* 2014; 8(15):8-15.
- Khan I, Najeibullah S, Ali M i wsp. Phytopharmacological and ethnomedicinal uses of the Genus Berberis (*Berberidaceae*): A review. *Trop J Pharm Res* 2016; 15(9):2047-57.
- Bober Z, Stępień A, Aebischer D i wsp. Fundamentals of the use of Berberis as a medicinal plant. *Eur J Clin Exp Med* 2018; 16(1):41-6.
- Neag MA, Mocan A, Echeverría J i wsp. Berberine: Botanical occurrence, traditional uses, extraction methods, and relevance in cardiovascular, metabolic, hepatic, and renal disorders. *Front Pharmacol* 2018; 9:557.
- Ai X, Yu P, Peng L i wsp. Berberine: A review of its pharmacokinetics properties and therapeutic potentials in diverse vascular diseases. *Front Pharmacol* 2021; 12:762654.
- Song D, Hao J, Fan D. Biological properties and clinical applications of berberine. *Front Med* 2020; 14(5):564-82.
- Och A, Podgórski R, Nowak R. Biological Activity of Berberine-A Summary Update. *Toxins (Basel)* 2020; 12(11):713.
- Cheng Z, Kang C, Che S i wsp. Berberine: A promising treatment for neurodegenerative diseases. *Front Pharmacol* 2022; 13:845591.
- Tian E, Sharma G, Dai C. Neuroprotective properties of berberine: molecular mechanisms and clinical implications. *Antioxidants* 2023; 12(10):1883.
- Koperska A, Bogdański P, Szulińska M. Rola berberyny w terapii otyłości i zaburzeń metabolicznych. *Forum Zaburzeń Metabolicznych* 2021; 12 (2):76-81.
- Mróz M, Pastusiak K, Bogdański P. Potencjalne możliwości wykorzystania berberyny w przeciwdziałaniu insulinooporności i w cukrzycy typu 2. *Post Hig Med Dośw* 2021; 75(2):790-801.
- Gatland AE, Pilgrim BS, Procopiou PA i wsp. Short and efficient syntheses of protoberberine alkaloids using palladium-catalyzed enolate arylation. *Angew Chemie – Int Ed* 2014; 53(52):14555-8.
- Yang Z, Zhang Y, Chen X i wsp. Total synthesis and evaluation of B-Homo Palmatine and Berberine derivatives as p300 Histone Acetyltransferase Inhibitors. *European J Org Chem* 2018; 2018(8):1041-52.
- Filli MS, Ibrahim AA, Kesse S i wsp. Synthetic berberine derivatives as potential new drugs. *Brazilian J Pharm Sci* 2022; 58:e18835.
- Tajiri M, Yamada R, Hotsumi M i wsp. The total synthesis of berberine and selected analogues, and their evaluation as amyloid beta aggregation inhibitors. *Eur J Med Chem* 2021; 215:113289.
- Han J, Li S. De novo biosynthesis of berberine and halogenated benzyloquinoline alkaloids in *Saccharomyces cerevisiae*. *Commun Chem* 2023; 6(1):27.
- Alam SD, Beg MA, Bagadi M i wsp. Facile extraction of berberine from different plants, separation, and identification by thin-layer chromatography, high-performance liquid chromatography, and biological evaluation against Leishmaniasis. *J Sep Sci* 2023; 46(21):2300582.
- Chaudhary MK, Misra A, Shankar U i wsp. Intra-specific variation of alkaloid content in *Berberis lycium* from

- the Western Himalaya. *J Herbs Spices Med Plants* 2021; 27(4):386-95.
24. Andola HC, Rawal RS, Rawat MSM i wsp. Analysis of berberine content using HPTLC fingerprinting of root and bark of three himalayan berberis species. *Asian J Biotechnol* 2010; 2(4):239-45.
25. Satija S, Malik S, Garg M. Development of a new, rapid, and sensitive validated high-performance thin-layer chromatographic method for the estimation of berberine in *Tinospora cordifolia*. *J Planar Chromatogr – Mod TLC* 2016; 29:209-15.
26. Ahamad J, Kaskoos RA, Amin SR, Mir S. Development and validation of an HPTLC method for estimation of berberine in *Berberis aristata*. *Res J Phytochem* 2021; 15(2):58-65.
27. Shidfar F, Ebrahimi SS, Hosseini S. The effects of berberis vulgaris fruit extract on serum lipoproteins, apoB, apoA-I, homocysteine, glycemic control and total antioxidant capacity in type 2 diabetic patients. *Iran J Pharm Res* 2012; 11(2):643-52.
28. Zovko Končić M, Kremer D, Schühly W i wsp. Chemical differentiation of *Berberis croatica* and *B. vulgaris* using HPLC fingerprinting. *Croat Chem Acta* 2010; 83(4):451-6.
29. Kamal Y, Singh M, Tamboli E i wsp. Quantitative analysis of berberine in *Berberis aristata* fruits and in a traditional anti-inflammatory unani formulation by use of a validated HPLC method. *Acta Chromatogr* 2011; 23(1):157-68.
30. Singh A, Bajpai V, Kumar S i wsp. Quantitative determination of isoquinoline alkaloids and chlorogenic acid in *Berberis* species using ultra high performance liquid chromatography with hybrid triple quadrupole linear ion trap mass spectrometry. *J Sep Sci* 2015; 38(12):2007-13.
31. Brázdovičová B, Košťálová D, Tomko J i wsp. Isolation and identification of alkaloids from fruits of *Berberis thunbergii* DC. *Chem zvesti* 1980; 34(2):259-62.
32. Villinski JR, Dumas ER, Chai HB i wsp. Antibacterial activity and alkaloid content of *Berberis thunbergii*, *Berberis vulgaris* and *Hydrastis canadensis*. *Pharm Biol* 2003; 41(8):551-7.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 09.03.2023

zaakceptowano/accepted: 22.03.2023

Adres/address:

*dr inż. Michał Miłek

Zakład Chemii i Toksykologii Żywności

Instytut Technologii Żywności i Żywnienia

Uniwersytet Rzeszowski

ul. Ćwiklińskiej 1a, 35-601 Rzeszów

tel.: +48 (17) 872-17-30

e-mail: mmilek@ur.edu.pl