

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ЛЕТУЧИХ КОМПОНЕНТОВ ФИТОПРЕПАРАТОВ ИЗ ТРЕХ ВИДОВ КОПЕЕЧНИКА (*H. neglectum*, *H. theinum*, *H. alpinum*)

Ю.С. Федорова, П.В. Кузнецов, А.С. Сухих

Современным хроматографическим методом газожидкостной хроматографией с масс-спектрометрической детекцией, определены основные компоненты летучих БАВ растительных препаратов из некоторых видов Копеечников (*К. забытый*, *К. чайный*, *К. альпийский*).

Ключевые слова: хромато-масс-спектрометрия, растения рода Копеечник

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что ГЖХ-МС - современный метод исследования летучих компонентов разнообразных растительных экстрактов, настоек и др.. С помощью данного метода из гексанового экстракта корней *H. theinum* были идентифицированы жирные кислоты, изофлавоноиды – медикарпин, веститол, формонетин; тритерпеновые соединения, основными из которых являются β -ситостерол и стигмаст-4-ен-3-он; фенольные соединения ряда бутилфенола [1]. По данным обзора Неретиной О.В. и соавт. [2] растительные биологически активные вещества (рБАВ) следующих видов копеечника - *H. neglectum*, *H. theinum*, *H. alpinum*, изучены не достаточно. Однако хорошо известен ряд их фармакологических эффектов: противовоспалительный, противоопухолевый, иммуностимулирующий, противовирусный и др. [3,4,5,6,7]. Недавно нами предложены новые авторские методики получения фитопрепаратов (ФП) из этих видов копеечника (решение о выдаче патента РФ на изобретение от 24.05.2010г.). Уже первичное изучение наших ФП из *H. neglectum* и *H. theinum* методом ГЖХ-МС показало высокую актуальность его применения для обнаружения ключевых рБАВ в летучих фракциях. Так, по данным [8], в ФП *H. neglectum* в них впервые обнаружены: группа фитостероидов и ряд витаминов (производное холекальциферола, ретинол, ретиналь).

Цель настоящей работы – сравнительный ГЖХ-МС анализ летучих компонентов ФП из *H. neglectum*, *H. theinum* и *H. alpinum*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые ФП получены по оригинальной авторской технологии (решение о выдаче патента РФ на изобретение от 24.05.2010г.) из аптечных образцов корней копеечника чайного (*H. theinum*), копеечника

забытого (*H. neglectum*) и травы копеечника альпийского (*H. alpinum*).

ФП были изучены методом ГЖХ-МС на приборе: хромато-масс-спектрометр Finnigan Trace DSQ (США), колонка TR-ms, газ-носитель гелий (скорость потока 5мл/мин.). Термические параметры хроматографирования: начальная температура - 50°C (выдержка 5 мин.), конечная – 340°C (выдержка 10 мин.), скорость нагрева 10°C в минуту. Объём пробы ФП, вводимый в хроматограф – 10мкл. Подготовка пробы: раствор образца разбавляли в ацетонитриле 2:5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами ранее показано [9], что по данным фитохимического скрининга основной ключевой компонент изученных ФП *H. theinum* и *H. neglectum* – олигомерные танины (осаждение 1% раствором желатина, чёрно-зелено-синие окраски с Fe(III) и др.). Их выделение и очистка проводилась нами методом жидкостной колоночной хроматографии на гелях: сефадекс LH-20 и его химически модифицированном аналоге [10].

В настоящей работе в условиях ГЖХ-МС анализа впервые получены следующие данные по летучим фракциям ФП: в копеечнике забытом из 34 значимых хроматографических фракций идентифицировано 17; в копеечнике чайном из 26 значимых фракций – также 17 фракций.

Обобщенные данные идентифицированных летучих компонентов содержащихся в фитопрепарате на основе *К. забытого* представлены в таблице 1.

Особо отметим, что все найденные рБАВ в исследуемых объектах отсутствуют (даже как групповые представители) в обзоре Неретиной О.В. и соавт. [2], в том числе и группа фитостероидов впервые найденных нами в копеечнике забытом [8]. Судя по этим

данным, мы рекомендуем (на перспективу) дальнейшее изучение разнообразных производных эстра-1,3,5(10)-триен-17-β-ола (см. табл. 1), как новых производных обнаруженных нами фитостероидов. Данная группа рБАВ также обнаружена в ФП Копеечника чайного (см. табл. 2).

Таблица №1

Летучие компоненты фитопрепарата из Копеечника забытого (*H. neglectum*)

№ п/п	врем. удерж. (мин/сек)	определяемые рБАВ	интенсив. пика
1	14.48	(2-фенил-1,3-диоксолан-4-ил) метиловый эфир (9E)-9-октадеценат	–
2	15.12	эстра-1,3,5(10)-триен-17-β-ол	мн
3	16.44	1-гептатриакотанол	мн
4	17.45	4-(4-гидроксифенил)-2-бутанол	ср
5	17.73	4-гидрокси- α – метил - бензенпропанол	ср
6	19.15	дифенилкетон	мж
7	19.43	этил α -d-глюкопиранозид	мж
8	20.75	D-манноза	ср
9	24.02	Бутил-ундециловый эфир фталевой кислоты	мн
10	24.38	2-гексадеканола	мн
11	26.08	Эстра-1,3,5(10)-триен-17-β-ол	ср
12	26.54	этиловый эфир пальмитиновой кислоты	ср
13	27.86	Этанол-2(9,12)-октадекадиениокси (ZZ)	сн
14	29.45	9,12-октадекадиеновая кислота (ZZ)	мн
15	29.81	Этиловый эфир 9,12-октадекадиеновой кислоты	мж
16	29.94	2-моно-олеин	ср
17	30.39	10-гидрокси-5,7-диметокси-2,3-диметил-1,4-антрацинидион	мн

где: – возможная экспериментальная примесь; мж – мажорная концентрация рБАВ в пробе; ср – средняя концентрация рБАВ в пробе; мн – минорная концентрация рБАВ в пробе.

Интересно, что в копеечнике альпийском не обнаружены рБАВ из группы фитостероидов. Однако в нем, по нашим данным, содержится наибольшее количество эфиров карбоновых кислот. Обобщенные данные идентифицированных летучих компонентов содержащихся в фитопрепарате на основе *K. альпийского* представлены в таб.3

Наибольшее совпадение найденных соединений (этил α -d-глюкопиранозид, D-манноза, этиловый эфир пальмитиновой кислоты, этиловый эфир 9,12- октадекадиено-

вой кислоты) обнаружено в ФП *H. neglectum* и ФП *H. alpinum*; наименьшее – в ФП *H. alpinum* и *H. theinum* (3-О-метил- d-глюкоза, н-гексадекановая кислота).

Таблица №2

Летучие компоненты фитопрепарата Копеечника чайного (*H. theinum*)

№ п/п	вр. удерж. (мин/сек)	определяемые рБАВ	интенсив. пика
1	4.00-16.00	сумма минорных компонентов 6-[7-нитробензофуразан-4-ил]амино-морфинан-4,5-эпокси-3,6-диола	мн
2	4.00-16.00	сумма минорных производных 2-бромотетрадекановой кислоты	мн
3	17.45	4-(4-гидроксифенил)-2-бутанол	мн
4	17.76	4-(p-гидроксифенил)-2-бутанол	мн
5	19.20	Этил-α-d-глюкопиранозид	мн
6	19.74	2,6-диизопропилнафталин	ср
7	19.91	2,6-диизопропилнафталин	ср
8	20.45	эстра-1,3,5(10)-триен-17-β-ол	ср
9	20.50	эстра-1,3,5(10)-триен-17-β-ол	ср
10	20.50	3-О-метил- d-глюкоза	ср
11	20.95	2,6-диизопропилнафталин	мж
12	21.84	тетрадекановая кислота	мн
13	25.98	н-гексадекановая кислота	ср
14	26.54	нитрил олеиновой кислоты	ср
15	31.54	3-этил-5-(2-этилбутил)-октадекан	мн
16	34.81	3-этил-5-(2-этилбутил)-октадекан	ср
17	37.53	производное сквалена: 2,6,10,15,19,23-гексаметил-(ол-Е)-2,6,10,14,18,22-тетракозагексан	мж

где: мж – мажорная концентрация рБАВ в пробе; ср – средняя концентрация рБАВ в пробе; мн – минорная концентрация рБАВ в пробе.

Таким образом, результаты исследований позволяют сделать вывод, что копеечники являются очень перспективными лекарственными растениями и заслуживают более детального изучения химического состава с целью создания на их основе разнообразных новых растительных лекарственных средств. По нашему мнению, ФП исследуемого типа могут являться основой для их создания.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ЛЕТУЧИХ КОМПОНЕНТОВ ФИТОПРЕПАРАТОВ ИЗ ТРЕХ ВИДОВ КОПЕЕЧНИКА

Таблица №3

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Летучие компоненты фитопрепарата из Копеечника альпийского *H. alpinum*

№ п/п	время удерживания (мин/сек)	определяемые рБАВ	интенсивность пика
1	5.27	3-метилбутиловый эфир муравьиной кислоты	ср
2	8.29	3-(3-аминобенз-амидо)-1-(2,4,6-трихлорфенил)-2-пиразолин-5-он	мн
3	11.87	2,4-диметоксифенол	мн
4	20.83	D-манноза	ср
5	21.71	этил α -d-глюкопиранозид	ср
6	24.00	3-O-метил- d-глюкоза	мж
7	25.37	4,4-этилендиокси-1-пентиламин	мн
8	26.46	n-гексадекановая кислота	ср
9	26.92	этиловый эфир пальмитиновой кислоты	ср
10	29.99	линоленовая кислота	ср
11	30.19	этил [9E,12E]-9,12октадека-диенат	ср
12	30.34	этиловый эфир линоленовой кислоты	мж
13	30.77	этил-15-метилгептадеканат	мн

1. Сальникова О.И., Покровский Л.М., Нечепуренко И.В., Нечепуренко С.Б., Половинка М.П., Салахутдинов Н.Ф. // Материалы II Всероссийской конф. «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». Барнаул. 21–22 апреля 2005. С. 452- 455.
2. Неретина О.В., Громова А.С., Луцкий В.Н., Семенов А.А. // Раст. ресурсы. 2004. Вып.4. С. 111-137.
3. Амосова Е. Н. // Автореф. дисс. ...д. биол. наук. Томск. 2007. 49с.
4. Song Q.H., Kobayashi T., Xiu L.M. et all. // J. Ethnopharmacology. 2000. V. 73. № 1-2. P. 111-119.
5. Максютин Н.П., Комиссаренко Н.Ф., Прокопенко А.П. // Пульмонология. 2005. Т. 7. № 1.
6. Тихонов В.Н., Калинкина Г.И., Сальникова Е.Н. под ред. Дмитрук С.Е. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты. – Томск. 2004. Ч. 2. С. 126-127.
7. Машковский М.Д. Лекарственные средства. -М.: РИА «Новая волна». 2007 – 896 с.
8. Фёдорова Ю.С., Кузнецов П.В. // Фармацевтическая наука, образование и практика: реалии и перспективы развития: Межрегион. конф сб. матер. – Тюмень. 2009. С.241-244.
9. Федорова Ю.С., Сухих А.С., Кузнецов П.В. // Вестник РАЕН (ЗСО). 2010.- С.183-186.
10. Кузнецов П.В., Фёдорова Ю.С. // Ползуновский вестник. № 3. 2009. С. 338-340.

К ФЕНОМЕНУ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ МЕТОДОМ ВЭЖХ НЕКОТОРЫХ ТИПОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ФИТОПРЕПАРАТАХ КОПЕЕЧНИКОВ *H. neglectum*, *H. theinum*, *H. alpinum*

Ю.С. Федорова, П.В. Кузнецов, А.С. Сухих, К.М. Минаев

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определены характерные типы растительных низкомолекулярных БАВ, свойственных определенным видам растений рода Копеечник.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, копеечник

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что среди более 250 видов растений рода *Hedysarum* в мировой флоре копеечник забытый (*H. neglectum*), копеечник чайный (*H. theinum*), и копеечник альпийский (*H. alpinum*) нашли широкое применение в народной и официальной медицине [1]. Ос-

новными их фармакологическими эффектами являются: противовоспалительный, антибактериальный, противовирусный, противоопухолевый, иммуностимулирующий и др. [2,3,4,5,6]. В настоящее время выпускается ряд лекарственных средств и биологически активных пищевых добавок, содержащих данные растения – таблетки «Алпизарин»