

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 рБВ	интенсивность пика
1	5.27	3-метилбутиловый эфир муравьиной кислоты	ср
2	8.29	3-(3-аминобензамидо)-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 БВ, 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»

(ВИЛАР, СССР), таблетки «Копеечник – М» (г.Барнаул, «Алтай-Фарм»), капли «Красный корень» (г.Бийск, «Эвалар»), фитосборы «Бережник» и «Фитопан М» (г. Новосибирск) и др. (более 100 патентов) [3,7,8].

Тем не менее, не смотря на обширное применение, химический состав копеечников чайного, забытого и альпийского является малоизученным [8,9].

Комплексом хроматографических и спектроскопических (ИК, ЯМР и др.) методов в экстрактах данных растений были обнаружены ксантоны: мангиферин и изомангиферин [9,10], а также флавоноиды: гиперозид и полистахозид (в копеечнике забытом) и астрагалозид VIII (в копеечнике альпийском) [11].

Методом ВЭЖХ Нечепуренко И.В. и соавт. в спиртовом экстракте корней копеечника чайного недавно определили группу конденсированных проантоцианидинов различной степени полимеризации. С данной группой биологически активных веществ (БАВ) авторы связывают наблюдаемые медицинские свойства данного растения [12]. Эти же авторы в этилацетатном экстракте корней копеечника чайного с помощью метода ГЖХ-МС определили также - тритерпеновые соединения, изофлавоноиды (медикарпин, веститол, формонетин) и жирные кислоты (гексадекановая, олеиновая, линолевая) [13].

Таким образом, определение ключевых типов растительных БАВ в фитопрепаратах (ФП) вышеупомянутых растений рода *Hedysarum* современными хроматографическими методами является весьма важной, актуальной и перспективной задачей в химии природных соединений. Поэтому цель данной работы – сравнительное изучение ФП копеечников чайного, забытого и альпийского методом ВЭЖХ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованные нами ФП *H. theinum* (ФП 1), *H. neglectum* (ФП 2), *H. alpinum* (ФП 3) получены по оригинальной авторской методике (решение о выдаче патента РФ на изобретение от 24.05.2010г.), на основе доступного аптечного сырья.

Хроматографирование проводили на приборе системы Альянс («Waters») с детектором с фотодиодной матрицей на колонке Alliance C18 (4,6 x 150), 5 мкм. в режиме элюирования: 0,1% об ортофосфорная кислота: ацетонитрил (78:22). Скорость потока – 1мл/мин., объем инъекции – 20 мкл, температура колонки – 30°C. Подготовка пробы: раствор образца разбавляли в 5 раз 50%

этиловым спиртом. Хроматографическая идентификация найденных БАВ проводилась с образцами свидетелей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В составе полученных нами ФП копеечников чайного, забытого и альпийского методом ВЭЖХ обнаружены следующие типы БАВ: жирные и оксикоричные кислоты, ксантоны, флавоноиды и дубильные вещества. Полученные экспериментальные данные приведены в таблицах №1 и №2. Так, в ФП 1 отмечено отсутствие капроновой и лауриновой кислот, в ФП 2 - каприновой и γ-линоленовой кислот, в ФП 3 найдено наименьшее количество жирных кислот, при этом отсутствуют: капроновая, лауриновая, гадолеиновая и пальмитолеиновая кислоты (см. табл. №1).

Таблица 1

Состав жирных кислот в исследуемых фитопрепаратах *H. theinum*, *H. neglectum*, *H. alpinum*

	идентифицированные соединения	ФП 1	ФП 2	ФП 3
1.	капроновая кислота	—	+	—
2.	каприловая кислота	+	+	+
3.	каприновая кислота	+	—	+
4.	лауриновая кислота	—	+	—
5.	миристиновая кислота	+	+	+
6.	пальмитиновая кислота	+	+	+
7.	пальмитолеиновая кислота	+	+	—
8.	стеариновая кислота	+	+	+
9.	олеиновая кислота	+	+	+
10.	линолевая кислота	+	+	+
11.	γ-линоленовая кислота	+	—	+
12.	α-линоленовая кислота	+	+	+
13.	гадолеиновая кислота	+	+	—

Поэтому вполне можно считать, что отсутствие вышеуказанных жирных кислот у ФП 3 и наличие их в ФП 1 и ФП 2 является их дифференцирующим признаком, а данные кислоты, на наш взгляд, можно отнести к реперным БАВ (рБАВ). Интересно, что только у ФП 2 (см. табл. 2) содержится одна реперная оксикислота - хлорогеновая.

Отсутствие флавоноидов рутина и кверцетина характерно только для ФП 1 и ФП 2, а в ФП 3 – практически не содержатся дубильные вещества.

Интересно, что разделение на виды *H. theinum* и *H. neglectum* на сегодня затруднено, из-за отсутствия четких систематических морфологических признаков, так как в природных популяциях одновременно встреча-

К ФЕНОМЕНУ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ МЕТОДОМ ВЭЖХ НЕКОТОРЫХ ТИПОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ФИТОПРЕПАРАТАХ КОПЕЕЧНИКОВ

ются особи с бурым (красным), белым и розовым корнями. По данным литературы считается, что бурый корень – это основной диагностический признак, характерный для представителей вида *H. theinum* [14]. Поэтому, для определения вида данных растений до настоящего времени применяется трудоемкий метод SDS-электрофореза [14].

Таблица 2

Содержание вторичных метаболитов

идентифицированные соединения	ФП 1	ФП 2	ФП 3
Дубильные вещества			
Галловая кислота	+	+	+
Эпигаллокатехин	+	+	—
Катехин	+	+	—
Эпикатехин	+	+	—
Флавоноиды			
Дандзин	+	—	+
Гиперозид	+	+	+
Рутин	—	—	+
Кверцетин	+	—	+
Ксантоны			
Мангиферин	+	+	+
Изомангиферин	+	+	+
Оксикоричные кислоты			
Цикоревая кислота	+	—	+
Кофейная кислота	+	—	+
Хлорогеновая кислота	+	+	+
Неохлорогеновая кислота	+	—	—

В заключении отметим, что полученные данные, к сожалению, могут варьировать из-за отсутствия стандартизированного аптечного сырья копеечников чайного и забытого, хотя нам известно, что эти два вида успешно культивируются в Иркутской области («Ортилия», г. Ангарск) [15]. Известно также, что для получения природных лекарственных веществ из копеечников (*H. Alpinum*, *H. neglectum*, *H. theinum*) применяются метод культивирования тканей *in vitro* [16,17].

Таким образом, найденные отличия химического состава изученных нами ФП могут быть рекомендованы для видовой дифференциации *H. theinum* и *H. neglectum*.

Так, наличие неохлорогеновой, хлорогеновой, цикоревой и кофейной, оксикоричных кислот, а также флавоноидов: дандзина и гиперозида и ряда жирных кислот (кроме ка-

проновой и лауриновой), свойственно только для копеечника чайного. Копеечник забытый, напротив, характеризуется присутствием только одной хлорогеновой кислоты, флавоноидом гиперозидом, и отсутствием жирных кислот - каприновой и γ -линоленовой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Флора Сибири Fabaceae (Leguminosae) / Под ред. Положий А.В., Малышевой Л.И. - Новосибирск.: Наука. - 1994. Т.9. С. 280.
2. Тихонов В.Н., Калинкина Г.И., Сальникова Е.Н., ред. Дмитрук С.Е. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты / Томск 2004. Ч. 2. С. 126-127.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства - М.: Новая волна. 2007. -896 с.
4. Федорова Ю.С., Кузнецов П.В., Сухих А.С. и др. // Вестник РАЕ (ЗСО). 2009. Вып. 11. С. 89-190.
5. Бородин Ю.И., Горчаков В.Н. // Сибирский онкологический журнал. 2005. № 2. С. 45-49.
6. Мичурин И.Е. Регионарные лимфатические узлы яичка в норме, при экспериментальном опухолевом росте в яичке и его лечение цитостатиками и фитопрепаратом: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Новосибирск. 2004. -19с.
7. Пат. № RU 2002122 А МПК 7 А61К35/783 / Прокöpfeва Л. А., Виноградов А. К., Некрасова О. Е. и др. РФ., 2004.
8. Неретина О.В., Громова А.С., Луцкий В.Н. и др. // Раст. ресурсы. 2004. Вып.4. С. 111-137.
9. Денисова О.А., Глызин В.И., Патудин А.В. и др. // Хим. Фарм. журн. 1980. № 14. С. 76-77.
10. Глызина Г.С., Быков В.И. // Химия природн. соедин. 1969. № 4. С. 322.
11. Хамидуллина Е.А., Зинченко С.В., Семенов А.А. // Растит. ресурсы. 2002. Вып. 1. С. 78-82.
12. Нечепуренко И.В., Половинка М.П., Комарова Н.И., и др. // Материалы Всероссийской науч. конф. "Современные проблемы органической химии". Новосибирск. 2007.-148с.
13. Сальникова О.И., Покровский Л.М., Нечепуренко И.В. и др. // Материалы II Всероссийской конф. «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». Барнаул. 2005. С. 452- 455.
14. Конарев В. Г., Гаврилук И. П., Губарева Н. К. Молекулярно-биологические аспекты прикладной ботаники, генетики и селекции. / М.: Колос. 1993. - 250с.
15. Карнаухова Н.А. // Раст. ресурсы. 2007. Вып. 3. С. 14-24.
16. Н.С.Ляпкина, Н.В.Хадеева, С.С.Шаин, А.Н.Майсун // Биотехнология. 1999. №1. С. 55-61.
17. Пат. 2360964 С1 МПК С12N5/04, А01Н4/00 // Кузовкина И. Н., Вдовитченко М. Ю., Альтерман И. Е., и др. -РФ, 2008.