МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «ФАРМАЦИЯ. ВЫЗОВЫ ВРЕМЕНИ»

30 ноября 2021 года состоялась онлайн-конференция молодых учёных «Фармация. Вызовы времени», организованная Первым Московским государственным медицинским университетом им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет) и Витебским государственным ордена Дружбы народов медицинским университетом. Ряд материалов конференции публикуются в данном номере журнала.

УДК 582.475.2:547.97 DOI: https://doi.org/10.52540/2074-9457.2021.4.5

К. С. Воронин[1], А. А. Фенин[2], И. А. Селиванова[1]

ФЛАВОНОИДЫ СУЧКОВОЙ ЗОНЫ ДРЕВЕСИНЫ ЛИСТВЕННИЦЫ

[1]ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет) Минздрава России, г. Москва, Россия
[2]ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева», г. Москва, Россия

Исследован компонентный состав флавоноидной фракции сучковой зоны древесины лиственницы даурской Larix dahurica Turcz. методом хромато-масс-спектрометрии. В качестве ее компонентов выявлены дигидрокверцетин, аромадендрин, дигидроизорамнетин, эриодиктиол и кверцетин.

Ключевые слова: дигидрокверцетин, сучковая зона древесины лиственницы, Larix dahurica, хромато-масс-спектрометрия.

ВВЕДЕНИЕ

Древесина лиственницы даурской *Larix dahurica* Turcz. является богатым источником биологически активных полифенольных соединений, в том числе флавоноидов. Ранее был изучен компонентный состав экстрактивных веществ комлевой зоны древесины лиственницы, на базе которых разработан фитопрепарат Диквертин. Его основным компонентом является флавоноид *(2R,3R)*-дигидрокверцетин (ДКВ), который обладает широким спектром фармакологического действия, основанном на его выраженной антиоксидантной активности [1]. Необходимость рационального использования древесины лиственницы предопределяет актуальность комплексного изучения других ее частей.

В настоящее время все большее применение для исследования многокомпонентных растительных экстрактов находят инструментальные методы анализа, в том числе хромато-масс-спектрометрия, введенная в Государственную фармакопею Российской Федерации XIV издания.

Цель исследования – установить компонентный состав флавоноидной фракции экстрактивных веществ сучковой зоны древесины лиственницы *Larix dahurica* Turcz. методом хромато-масс-спектрометрии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служил полифенольный экстракт сучковой зоны древесины лиственницы («Аметис», г. Благовещенск). Компонентный состав экстракта определяли методом ВЭЖХ-МС/МС. В работе использовали хроматограф ACQUITY UPLC (Waters) с диодно-матричным детектором и тандемным квадрупольным масс-спектрометром Xevo TQD (Waters). Условия хроматографирования (условия): колонка ACQUITY UPLC BEH Phenyl 1,7 мкм (2,1 × 100 мм) (Waters); подвижные фазы: А – 0,5% водный раствор муравьиной кислоты, В – 0,5% рас-

твор муравьиной кислоты в ацетонитриле; градиентный режим элюирования: 0 мин – 100% А, 5 мин – 85% А, 7,5 мин – 75% А, 10 мин – 62,5% А, 15 мин – 100% В; скорость потока 0,2 мл/мин. Рабочие параметры масс-спектрометра: режим ионизации – положительный и отрицательный электроспрей; напряжение на капилляре – 3 кВ, напряжение на конусе – 30 В, напряжение в столкновительной ячейке – 20 В, температура газа-осушителя – 320 °С, скорость потока газа-осушителя – 700 л/ч, поток на конусе – 50 л/ч, температура источника – 150 °С. Идентификацию пиков на хроматограмме проводили путем сопоставления хроматографических и спектральных характеристик компонентов экстракта с аутентичными образцами и литературными данными.

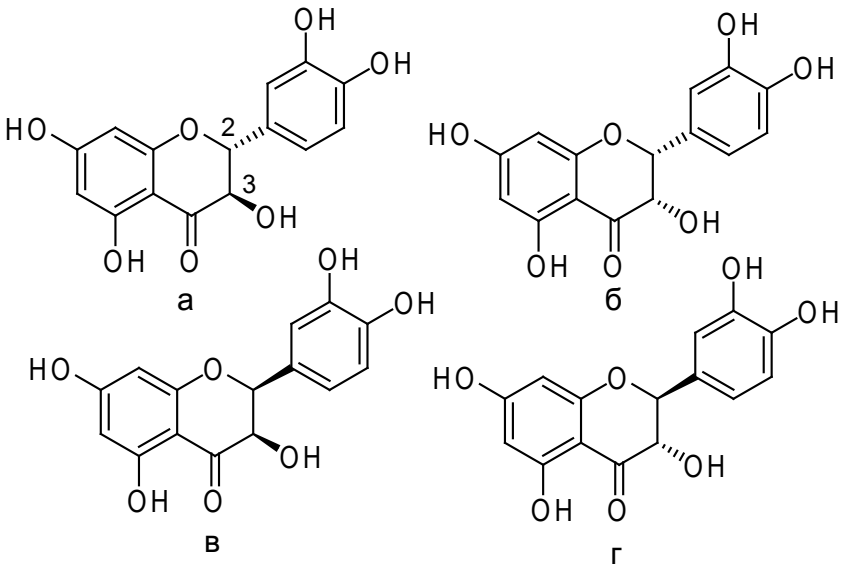
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оптимизации условий хроматографического разделения компонентов исследуемого экстракта в качестве подвижной фазы использовали смеси воды с ацетонитрилом или метанолом с добавлением кислотных модификаторов: муравьиной и уксусной кислот. Испытаны изократический, градиентный и смешанный режимы элюирования. В качестве неподвижной фазы были опробованы фенильный и октадецилсилильный сорбенты. Исследованы режимы ионизации (положительный и отрицательный электроспрей), разные значения параметров работы масс-спектрометра: напряжение на капилляре, напряжение на конусе, напряжение в столкновительной ячейке. Время удерживания (ВУ) и спектральные характеристики компонентов экстракта, полученные при оптимальных условиях (см. условия, «Материалы и методы»), представлены в таблице.

Таблица. – Данные хромато-масс-спектрометрии компонентов экстракта сучковой зоны древесины лиственницы

ВУ, мин	$[M-H]^-$	$\lambda_{макс}$, нм
6,80	303	289
7,08	303	289
7,80	287	287
8,05	317	287
9,04	287	286
9,20	301	230; 368

Пик с ВУ 6,80, при сравнении со стандартным образцом, был идентифицирован как *(2R,3R)*-ДКВ (рисунок 1), абсолютная конфигурация которого ранее определена методом рентгеноструктурного анализа [2]. Для *(2R,3R)*-ДКВ характерно диэкваториальное положение объемных заместителей: дигидроксифенильного кольца у атома С-2 и гидроксильной группы у атома С-3. По результатам молекулярного моделирования было установлено, что устойчивость стереоизомеров ДКВ уменьшается в ряду: *(2R,3R)*-ДКВ, *(2R,3S)*-ДКВ, *(2S,3R)*- и *(2S,3S)*-ДКВ [3, 4]. В случае *(2R,3S)*-изомера



а – *(2R,3R)*-ДКВ, б – *(2R,3S)*-ДКВ, в – *(2S,3R)*-ДКВ, г – *(2S,3S)*-ДКВ
Рисунок 1. – Стереоизомеры ДКВ

гидроксильная группа у атома С-3 занимает аксиальное положение, что приводит к увеличению потенциальной энергии молекулы по сравнению с *(2R,3R)*-изомером. Таким образом, пик с ВУ 7,08 соответствуют стереоизомеру ДКВ, которому может быть приписана *(2R,3S)*-конфигурация центров хиральности.

В УФ-спектре компонента, которому соответствует пик на хроматограмме с ВУ 9,20, наблюдается характерное для флавонолов поглощение в области 370 нм. Масс- и УФ-спектры, а также ВУ этого соединения совпадают с таковыми аутентичного образца кверцетина (3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-4*H*-1-бензопиранон-4; КВ). Компоненты с ВУ 7,80 и 9,04 имеют аналогичные спектральные характеристики и одинаковую молекулярную массу (288), отличающуюся от массы ДКВ на 16 единиц, что означает потерю одной гидроксильной группы. Таким образом, эти пики могут соответствовать биогенетически родственным ДКВ соединениям: флаванону – эриодиктиолу или флаванонолу – дигидрокемпферолу (аромадендрину) (рисунок 2).

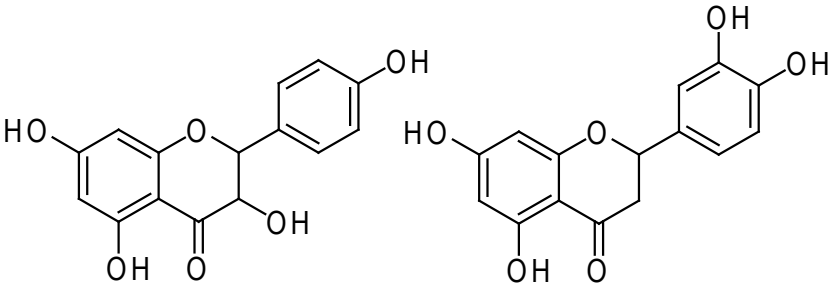


Рисунок 2. – Биогенетические родственники ДКВ

В спектре фрагментации пика молекулярного иона компонента с ВУ 7,80 наблюдаются пики: в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов – *m/z* 269 $[M-H-H_2O]^-$, *m/z* 259 $[M-H-CO]^-$; в режиме регистрации положительно заряженных ионов – *m/z* 271 $[M+H-H_2O]^+$, *m/z* 243 $[M+H-H_2O-CO]^+$, что соответствует профилю фрагментации аромадендрина [5]. В свою очередь, в спектре компонента с ВУ 9,04 наблюдаются пики, характерные для фрагментации эриодиктиола в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов: *m/z* 151 и *m/z* 135, которые соответствуют частицам, образующимся при разрыве связей гетероциклического кольца [6]. Хроматографические исследования на модельных смесях флавоноидов и растительных экстрактах показали, что флаванонол аромадендрин в условиях обращенно-фазовой хроматографии элюируется после флаванонола ДКВ (в связи с меньшей полярностью, из-за отсутствия одной гидроксильной группы по сравнению с ДКВ), но перед флавонолом КВ, в то время как флаванон эриодиктиол характеризуется бóльшим ВУ, чем аромадендрин, но меньшим, чем КВ [7, 8]. Таким образом, по сумме спектральных и хроматографических данных, компонент с ВУ 7,80 был идентифицирован как аромадендрин, а компонент с ВУ 9,04 – как эриодиктиол.

Компонент, которому соответствует пик на хроматограмме с ВУ 8,05, по масс- и УФ-спектрам может быть отнесен к одному из монометиловых эфиров ДКВ. Для уточнения положения метокси-группы был проведен сопоставительный анализ фрагментации пика молекулярного иона неизвестного компонента в режиме регистрации положительно заряженных ионов с профилем фрагментации ДКВ, для которого характерно образование двух интенсивных пиков: *m/z* 153 (относительная интенсивность 100%), обусловленного потерей кольца В в виде нейтральной частицы, и *m/z* 123 (относительная интенсивность 90,35%), принадлежащего 3,4-дигидроксибензильному катиону [9]. В спектре исследуемого соединения обнаруживаются пики *m/z* 153 (относительная интенсивность 100%), *m/z* 137 (относительная интенсивность 93,45%), но отсутствует пик *m/z* 123, что может быть связано с замещением одной из гидроксильных групп на метокси-группу в коль-

це В. Ранее сообщалось об обнаружении в различных частях лиственницы 3`-метилового эфира КВ – изорамнетина, следовательно, можно предположить, что компоненту с ВУ 8,05 соответствует его биогенетический предшественник флаванонол дигидроизорамнетин (2,3-дигидро-3,5,7-тригидрокси-2-(4-гидрокси-3-метокси)-4*H*-1-бензопиранон-4) [10], фрагментация которого изображена на рисунке 3.

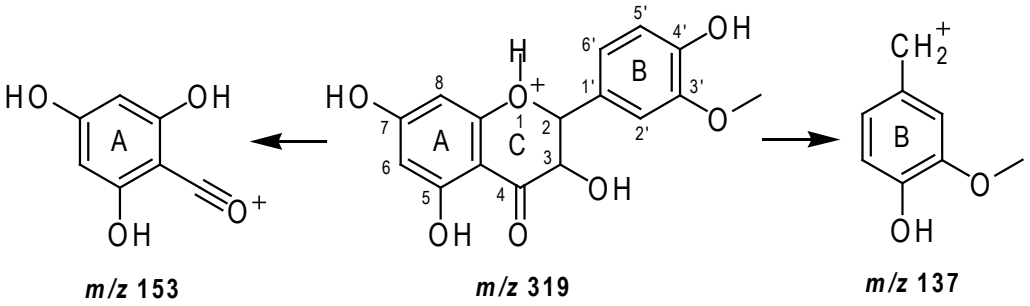


Рисунок 3. – Основные пути фрагментации дигидроизорамнетина

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам хромато-масс-спектрометрии в качестве компонентов флавоноидной фракции сучковой зоны древесины лиственницы даурской *Larix dahurica* Turcz. выявлены дигидрокверцетин, аромадендрин, дигидроизорамнетин, эриодиктиол и кверцетин.

SUMMARY

K. S. Voronin, A. A. Fenin, I. A. Selivanova
FLAVONOIDS OF LARCH KNOTWOOD

Flavonoid fraction composition of *Larix dahurica* Turcz. knotwood was studied with HPLC-DAD/ESI-MS/MS. Dihydroquercetin, aromadendrin, dihydroisorhamnetin, eriodictyol and quercetin were revealed as its components.

Keywords: dihydroquercetin, larch knotwood, *Larix dahurica,* HPLC-DAD/ESI-MS/MS.

ЛИТЕРАТУРА

1. Плотников, М. Б. Лекарственные препараты на основе диквертина / М. Б. Плотников, Н. А. Тюкавкина, Т. М. Плотникова. – Томск: Изд-во Томского ун-та, 2005. – 228 с.

2. Исследование кристаллической структуры дигидрокверцетина / И. А. Селиванова [и др.] // Химико-фармацевт. журн. – 1999. – Т. 33, № 4. – С. 51–53.

3. Стереоизомерия дигидрокверцетина в формате молекулярного дизайна / И. А. Селиванова [и др.] // Сб. материалов IV Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Инновации в здоровье нации». – Санкт-Петербург: С.-Петерб. гос. химико-фармацевт. акад, 2016. – С. 567–571.

4. Терехов, Р. П. Компьютерное моделирование как путь разработки фитопрепаратов на базе флавоноидов / Р. П. Терехов, И. А. Селиванова // Фармация. Спец. вып. – 2016. – С. 112–116.

5. Phenolic compounds from Populus alba L. and Salix subserrata Willd. (Salicaceae) counteract oxidative stress in Caenorhabditis elegans / N. Tawfeek [et al.] // Molecules. – 2019. – Vol. 24, N 10. – P. 1999.

6. Counter-current chromatography with off-line detection by ultra high performance liquid chromatography/high resolution mass spectrometry in the study of the phenolic profile of Lippia origanoides / S. G. Leitão [et al.] //J. of Chromatography. A. – 2017. – Vol. 1520. – P. 83–90.

7. Polyphenolic profile as a useful tool to identify the wood used in wine aging / M. Sanz [et al.] // Analytica Chimica Acta. – 2012. – Vol. 732. – P. 33–45.

8. Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds / P. E. Milbury [et al.] // J. of Agr. and Food Chemistry. – 2006. – Vol. 54, N 14. – P. 5027–5033.

9. A fragmentation study of dihydroquercetin using triple quadrupole mass spectrometry and its application for identification of dihydroflavonols in Citrus juices / B. Abad García [et al.] // Rapid Communications in Mass Spectrometry. – 2009. – Vol. 23, N 17. – P. 2785–2792.

10. Флавоноидные соединения коры лиственницы сибирской и лиственницы Гмелина / С. З. Иванова [и др.] //Химия растит. сырья. – 2002. – № 4. – С. 5–13.

REFERENCES

1. Plotnikov MB, Tiukavkina NA, Plotnikova TM. Medicines based on divertin. Tomsk, RF: Izd-vo Tomskogo un-ta; 2005. 228 s. (In Russ.)

2. Selivanova IA, Tiukavkina NA, Kolesnik

IuA, Nesterov VN, Kuleshova LN, Khutorianskii VA i dr. Study of the crystal structure of dihydroquercetin. Khimiko-farmatsevt. zhurn. 1999;33(4):51–3. (In Russ.)

3. Selivanova IA, Tiukavkina NA, Terekhov RP, Fenin AA. Stereoisomerism of dihydroquercetin in molecular design format. V: Sb materialov IV Vseros nauch-prakt konf s mezhdunar uchastiem «Innovatsii v zdorov'e natsii». Sankt-Peterburg, RF: S-Peterb gos khimiko-farmatsevt akad; 2016. s. 567–71. (In Russ.)

4. Terekhov RP, Selivanova IA. Computer modeling as a way to develop phytopreparations based on flavonoids. Farmatsiia. Spets vyp. 2016:112–6. (In Russ.)

5. Tawfeek N, Sobeh M, Hamdan DI, Farrag N, Roxo M, El-Shazly AM et al. Phenolic compounds from Populus alba L. and Salix subserrata Willd. (Salicaceae) counteract oxidative stress in Caenorhabditis elegans. Molecules. 2019;24(10):1999. doi: 10.3390/molecules24101999

6. Leitão SG, Leitão GG, Vicco DKT, Pereira JPB, de Morais Simão G, Oliveira DR et al. Counter-current chromatography with off-line detection by ultra high performance liquid chromatography/high resolution mass spectrometry in the study of the phenolic profile of Lippia origanoides. J Chromatography A. 2017;1520:83-90. doi: 10.1016/j.chroma.2017.09.004

7. Sanz M, de Simón BF, Cadahía E, Esteruelas E, Muñoz ÁM, Hernández MT et al. Polyphenolic profile as a useful tool to identify the wood used in wine aging. Anal Chim Acta. 2012;732:33–45. doi: 10.1016/j.aca.2011.12.012

8. Milbury PE, Chen CY, Dolnikowski GG, Blumberg JB. Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds. J Agric Food Chem. 2006;54(14):5027-33. doi: 10.1021/jf0603937

9. Abad García B, Garmon-Lobato S, Berrueta LA, Gallo B, Vicente F. A fragmentation study of dihydroquercetin using triple quadrupole mass spectrometry and its application for identification of dihydroflavonols in Citrus juices. Rapid Commun Mass Spectrom. 2009;23(17):2785–92. doi: 10.1002/rcm.4182

10. Ivanova SZ, Fedorova TE, Ivanova NV, Fedorov SV, Ostroukhova LA, Malkov IuA i dr. Flavonoid compounds of the bark of Siberian larch and Gmelin larch. Khimiia rastit syr'ia. 2002;(4):5-13. (In Russ.)

Адрес для корреспонденции:
119991, Россия,
г. Москва, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2,
ИФ ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России,
кафедра химии,
тел.: 8 916 528 41 52,
e-mail: voronin_k_s@staff.sechenov.ru
(crowk92@yahoo.com),
Воронин К. С.

Поступила 30.11.2021 г.

УДК 615.322:577.16 DOI: https://doi.org/10.52540/2074-9457.2021.4.9

Д. В. Левушкин, И. В. Гравель

МНОГОКОМПОНЕНТНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СБОРЫ КАК ИСТОЧНИК МАКРОЭЛЕМЕНТОВ

ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет) Минздрава России, г. Москва, Россия

Лекарственное растительное сырье содержит не только биологически активные вещества, но и минеральные элементы. В настоящее время лекарственные растительные препараты как источники макроэлементов практически не изучены. Цель работы – изучить содержание макроэлементов, которые могут способствовать проявлению терапевтических эффектов на примере грудного сбора № 4. Проведен анализ содержания макроэлементов (K, Na, Mg, Ca, P, S, Fe) в грудном сборе № 4 и его компонентах методом атомно-эмиссионной спектрометрии. Определен диапазон концентраций макроэлементов (62,71–21705,63 мг/кг). Их средние значения убывали в ряду: K > Ca > Mg > P > S > Na > Fe. В настой из грудного сбора № 4 макроэлементы переходят от 10 до 80%. Обнаружено, что содержание калия, натрия, магния, кальция, фосфора, серы и железа в грудном сборе № 4 составило 25–1100% от суточной потребности, что позволяет