

УДК 615.074

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КОРНЕЙ СПАРЖИ КИСТЕВИДНОЙ

И.В. Гравель*, А.А. Скибина, А.Н. Кузьменко, Н.Б. Демина,
И.И. Краснюк (мл.), С.П. Завадский, А.В. Пирогов¹

(Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова; *e-mail: igravel@yandex.ru)

Методами газо-жидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографий изучен химический состав корней спаржи кистевидной. Выявлены вещества-маркеры, характерные для данного вида сырья. Установлено количественное содержание диосцина в корнях *A. racemosus*.

Ключевые слова: спаржа кистевидная, газожидкостная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, протодиосцин, диосцин.

Спаржа кистевидная (*Asparagus racemosus*) – лекарственное растение (ЛР), широко применяемое в восточной медицине. Растение содержит стероидные сапонины (протодиосцин, диосцин и др.), которые оказывают на организм действие, подобное натуральным гормонам, нормализуют работу женской половой системы, способствуя ускорению перехода эстрадиола в эстрол, влияют на синтез прогестерона. Кроме того, в состав спаржи кистевидной входят изофлавоны, алкалоиды, полисахариды и другие группы биологически активных веществ [1]. Препараты на основе корней *A. racemosus* нормализуют женскую гормональную систему, обладают антиоксидантным и иммуностимулирующим действием.

Сырье спаржи кистевидной включено в Аюрведическую фармакопею [2]. В Государственную фармакопею (ГФ) XIII издания данный вид не входит, однако лекарственное растительное сырье (ЛРС) и препараты на его основе поступают на российский фармацевтический рынок.

Цель нашей работы состояла в качественном и количественном исследовании корней спаржи кистевидной, а также определении веществ-маркеров, характерных для данного вида сырья.

Экспериментальная часть

Пробоподготовка. Объектом исследования служили высушенные корни спаржи кистевидной (г. Мумбаи, Индия) и извлечения на их основе.

Компонентный состав летучей фракции хлороформного и ацетонитрильного извлечений определяли методом газо-жидкостной хроматографии с масс-селективным детектором (ГЖХ–МС). Хлороформное извлечение из сырья получали мето-

дом циркуляционной экстракции. Для этого 35 г высушенных измельченных корней спаржи кистевидной в марлевом мешочке загружали в экстрактор Сокслета и исчерпывающе экстрагировали (на водяной бане) 230 мл смеси хлороформа и 95%-го этилового спирта (10:1) в течение 4 ч. Полученный экстракт концентрировали до объема 100 мл и использовали для дальнейших исследований [3, 4]. Ацетонитрильное извлечение получали настаиванием порошка корней спаржи кистевидной в ацетонитриле (1:1). В процессе пробоподготовки к анализу флаконы с полученными извлечениями помещали в ультразвуковую ванну-мешалку (УЗ-ванну) «Сапфир» (без нагрева) на 10 мин. Затем отбирали 10 мл экстракта в пластиковую колбу и центрифугировали в течение 2 мин на центрифуге «Ohaus Split 16000 gpm» при 16 000 об/мин. После этого микродозатором отбирали 1 мл экстракта с поверхности для предотвращения попадания частиц сырья и помещали в барабан инжектора хромато-масс-спектрометра [5].

Условия хроматографирования. Работу проводили на газовом хроматографе «Agilent Technologies 6850 Series II», детектор масс-селективный «Agilent Technologies 5973 Network», колонка «HP-5MS» (30 м × 0,25 мм), температура колонки 30–240 °С. Скорость подъема температуры 5 °/мин; конечный изотермический участок 10 мин. Температура испарителя 200 °С. Температура инжектора 30 °С; скорость газа-носителя (гелия) 1 мл/мин.

Качественное и количественное определение стероидных сапонинов в порошке спаржи кистевидной проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова.

Т а б л и ц а 1

**Параметры градиентного режима
хроматографирования**

Время, мин	ПФ А, %	ПФ В, %
0	70	30
20	50	50
30	30	70
35	30	70
36	70	30
42	70	30

О б о з н а ч е н и я. ПФ А (подвижная фаза А) – деионизованная вода, подкисленная трифторуксусной кислотой до рН 3,0; ПФ В (подвижная фаза В) – ацетонитрил.

Для пробоподготовки в колбу для экстракции вместимостью 50 мл отвешивали точную навеску 0,566 г измельченного сырья спаржи кистевидной и добавляли 20 мл 70%-го метилового спирта, затем экстрагировали в течение 15 мин на УЗ-ванне [6]. Анализ проводили на жидкостном хроматографе «Agilent 1290» со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим (6460) детекторами. Колонка «Zorbax XDB-C18» («Agilent», США) размером 150×4,6 мм, диаметр частиц сорбента 5 мкм.

Условия хроматографирования. Предколонка «Security Guard C18» (4×3 мм; «Phenomenex», США), температура колонки 25 °С, скорость подвижной фазы 1 мл/мин, объем вводимой пробы 20 мкл, градиентный режим для определения протодиосцина и диосцина указан в табл. 1.

Условия УФ-детектирования выбирали на основании данных спектрофотометрического анализа (длина волны 205 нм при ширине спектральной полосы 4 нм). Условия масс-спектрометрического детектирования: режим сканирования ионов – положительные ионы, диапазон масс сканируемых ионов от 400 до 1500 *m/z*; давление небулайзера 70 psi; скорость и температура газа-осушителя составляли соответственно 12 л/мин и 350 °С.

Результаты и их обсуждение

Методом ГЖХ–МС в составе хлороформного извлечения из корней спаржи кистевидной идентифицировали 11 веществ (табл. 2, рис. 1).

Одним из веществ-маркеров с большей степенью надежности можно считать обнаруженный в хлороформном экстракте спаржи кистевидной андрост-5,7-диен-3-ол-17-он (1,16%) из группы фитостероидов (рис. 2), однако в составе ацетонитрильного извлечения он не обнаружен. Возможно, это связано с различием индексов полярности растворителей.

Т а б л и ц а 2

Состав хлороформного извлечения из корней спаржи кистевидной

Соединение	Время удерживания, мин	Относительное содержание, %
2,6,10-триметил-тетрадекан	20,176	1,33
Трет-гексадекантиол	20,28	1,31
2-гексил-деканол	21,204	2,76
Дибутилфталат	21,795	4,91
Эйкозан	22,184	4,36
Андрост-5,7-диен-3-ол-17-он	22,393	1,16
Пентакозан	23,123	5,61
	24,019	6,06
	24,874	6,91
Н-фенил-2-нафтиламин	24,304	20,66
Тетракозан	25,694	7,6
Гентриаконтан	26,521	7,14
	27,501	7,07
Бис(2-этилгексил)фталат	26,945	5,74

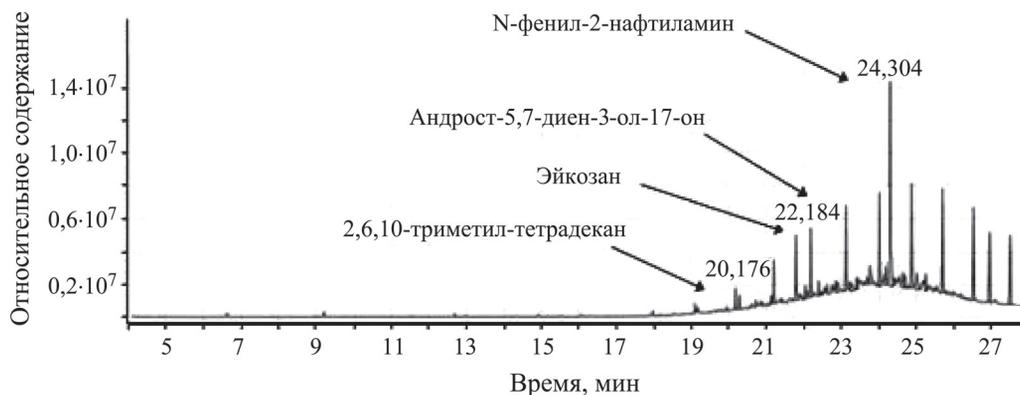


Рис. 1. Хроматограмма ГЖХ–МС-анализа хлороформного извлечения из сырья спаржи кистевидной. Условия хроматографирования см. в тексте

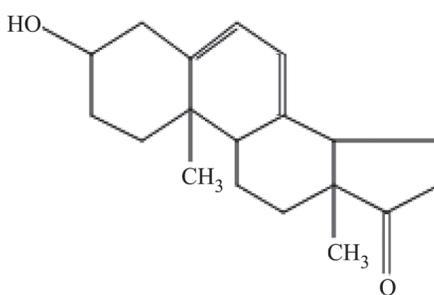


Рис. 2. Структурная формула андрост-5,7-диен-3-ол-17-она

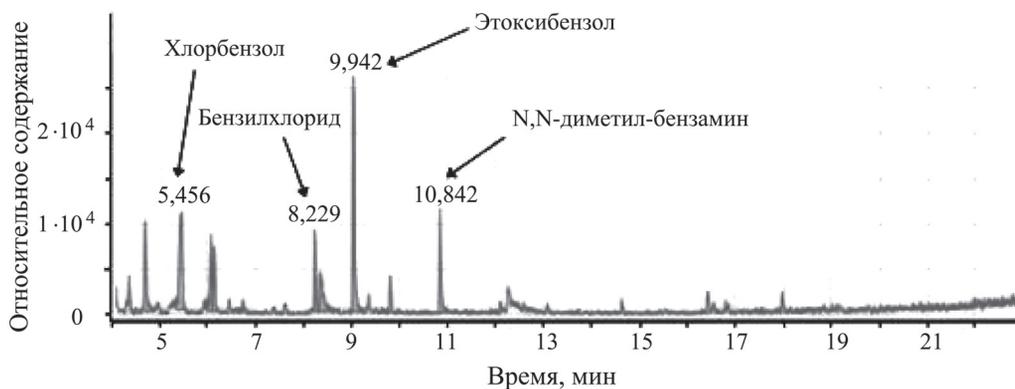


Рис. 3. Хроматограмма ГЖХ–МС-анализа ацетонитрильного извлечения из сырья спаржи кистевидной. Условия хроматографирования см. в тексте

Компонентный состав и хроматограмма ГЖХ–МС анализа летучей фракции ацетонитрильного извлечения представлены в табл. 3 и на рис. 3. Установлено, что из веществ летучей фракции в хлороформном экстракте преобладал N-фенил-2-нафтиламин (20,66%), а в ацетонитрильном извлечении – этоксибензол (24,39%) и хлорбензол (20,32%).

В результате ВЭЖХ–МС-анализа корней спаржи кистевидной на хроматограмме обнаружен

пик (рис. 4), отвечающий времени удерживания, близкому к этому показателю для пика стандарта протодиосцина (время удерживания протодиосцина $22,22 \pm 0,05$ мин) и масс-спектр с наиболее интенсивным ионом $m/z = 1033$ (на 2 ед. атомной массы больше, чем у стандартного образца). Скорее всего, это связано с тем, что данное соединение является аналогом протодиосцина с восстановленной кратной связью. Можно предположить, что в исследованном экстракте из ЛРС

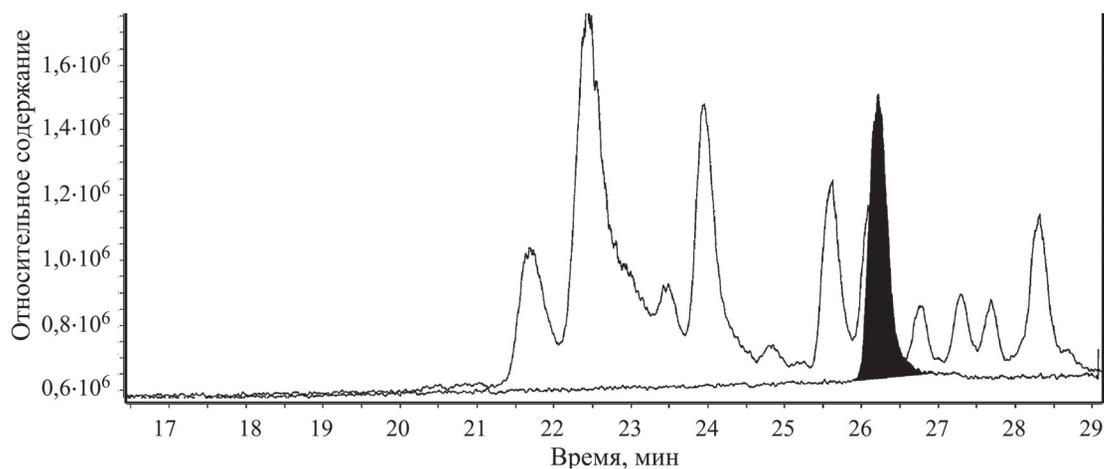


Рис. 4. Наложение хроматограмм метанольного извлечения из корней спаржи кистевидной и стандартного раствора протодиосцина. Условия хроматографирования см. в тексте

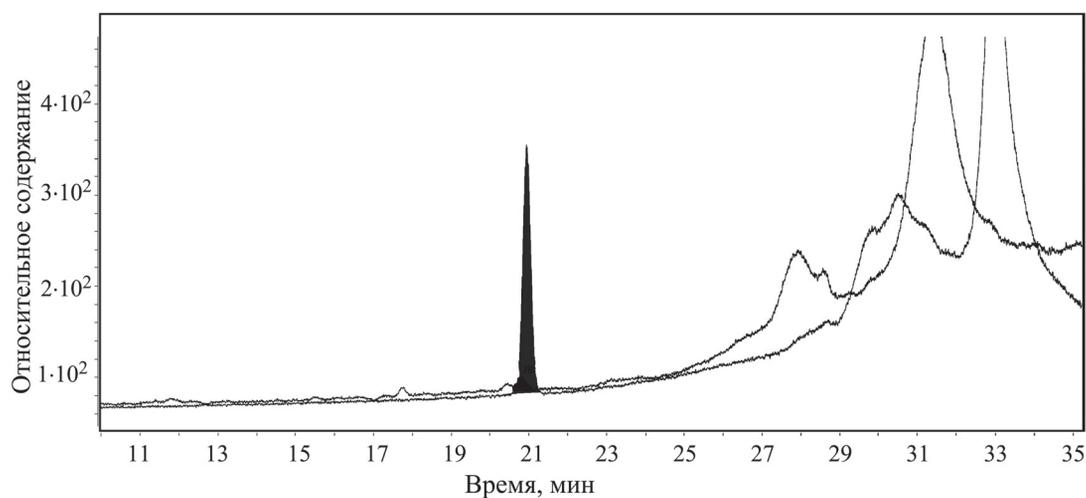


Рис. 5. Наложение хроматограмм метанольного извлечения из корней спаржи кистевидной и стандартного раствора диосцина. Условия хроматографирования см. в тексте

Т а б л и ц а 3

Состав ацетонитрильного извлечения из сырья спаржи кистевидной

Соединение	Время удерживания, мин	Относительное содержание, %
Неопентилгликоль	4,699	10,68
Хлорбензол	5,456	20,32
Этилбензол	6,075	7,72
	6,137	6,8
Бензилхлорид	8,229	7,33
2-(формилокси)-1-фенилэтанон	8,347	9,36
Этоксibenзол	9,042	24,39
N,N-диметил-бензамин	10,842	9,07

содержится восстановленный протодиосцин. Пик со временем удерживания 20,8 мин является диосцином (рис. 5), так как совпадает по времени удерживания и спектрам со стандартом. Содержание диосцина в образце находится на уровне предела обнаружения, что в пересчете на количество экстрагента и массу навески составляло 13,2 мг/кг.

Таким образом, изучен компонентный состав извлечений из корней спаржи кистевидной. В составе хлороформного экстракта методом ГЖХ–

МС идентифицированы 11 веществ, а в составе ацетонитрильного – 7. Из них в качестве маркера может быть предложено соединение из группы фитостероидов – андрост-5,7-диен-3-ол-17-он. Методом ВЭЖХ–МС в сырье спаржи кистевидной обнаружен стероидный сапонин – восстановленный протодиосцин. Установлено количественное содержание диосцина (13,2 мг/кг), который также может являться веществом-маркером для данного вида сырья.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Anupam K. Sachan, Doli R. Das, Seneh L. Dohare, Mohd. Shuaib // Int. J. Pharmacol. Clin Sci. 2012. Vol. 1. N 3. P. 588.
2. The Ayurvedic Pharmacopoeia of India, Govt. of India Ministry of health & family welfare department of Ayurveda yoga-nathuropathy, Unani Sidha & Homoeopathy (Ayush). Part I. New Delhi, 2007. Vol. IV. P. 167.
3. Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. М., 2004. С. 516.
4. Vasundra P.A., Divya priya S. // Asian J. Pharm Clin Res. 2013. N 6. P. 190.
5. Кузьменко А.Н., Решетняк В.Ю. Стандартизация лекарственного растительного сырья и растительных сборов хроматографическими методами. М., 2010. С. 104.
6. Jaiswal Y., Liang Z., Ho A., Chen H., Zhao Z. // Phytochem. Anal. 2014. Vol. 25. N 6. P. 2522.

Поступила в редакцию 13.12.16

RESEARCH OF CHEMICAL COMPOSITION OF ASPARAGUS RACEMOSUS ROOTS

I.V. Gravel*, A.A. Skibina, A.N. Kuz'menko, N.B. Demina, I.I. Krasnyuk (Jr.), S.P. Zavadskiy, A.V. Pirogov

(State Federal-Funded Educational Institution of Higher Professional Training I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; *e-mail: igravel@yandex.ru)

Chemical composition of *Asparagus racemosus* roots was investigated by gas-liquid and high-performance liquid chromatography. Chemical markers specific for the type of raw material were selected. Dioscin quantitative content was determined in the roots of *A. racemosus*.

Key words: *Asparagus racemosus*, gas-liquid chromatography, high-performance liquid chromatography, protodioscin, dioscin.

Сведения об авторах: Гравель Ирина Валерьевна – профессор кафедры фармакогнозии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, докт. фарм. наук (igravel@yandex.ru); Скибина Анастасия Алексеевна – аспирант кафедры фармакогнозии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (askibina93@gmail.com); Кузьменко Алексей Николаевич – профессор кафедры аналитической, физической и коллоидной химии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, докт. фарм. наук; Демина Наталья Борисовна – профессор кафедры фармацевтической технологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, докт. фарм. наук (nbd217@mail.ru); Краснюк Иван Иванович (мл.) – зав. кафедрой аналитической, физической и коллоидной химии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, докт. фарм. наук (krasnyuk.79@mail.ru); Завадский Сергей Павлович – доцент кафедры аналитической, физической и коллоидной химии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, канд. фарм. наук (rgus78@bk.ru); Пирогов Андрей Владимирович – профессор кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук.