

П.Б. Лубсандоржиева ¹, Н.Б. Болданова ²

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКДИСТЕРОНА В МНОГОКОМПОНЕНТНОМ АДАПТОГЕННОМ СРЕДСТВЕ МЕТОДОМ ВЭЖХ

¹ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (Улан-Удэ)² ФГБУН Байкальский институт природопользования СО РАН (Улан-Удэ)

В 15-компонентном адаптогенном средстве *Адаптофит* идентифицирован экдистерон методом ВЭЖХ

Ключевые слова: экдистерон, адаптогенное средство

DETERMINATION OF ECDYSTERONE IN MULTICOMPONENT ADAPTOGENIC REMEDY BY HPLC METHOD

P.B. Lubsandorzheva ¹, N.B. Baldanova ²¹ Institute of General and Experimental Biology SD RAS, Ulan-Ude² The Baikal Institute of Nature Management SD RAS, Ulan-Ude

Ecdysterone was identified in a 15-componental adaptogenic remedy *Adaptophyte* by HPLC method.

Key words: ecdysterone, adaptogenic remedy

В практической фармации широко внедряются адаптогенные средства, позволяющие обеспечить высокий уровень работоспособности и здоровья в экстремальных условиях жизни. Особенно актуально создание комбинированных лекарственных средств, содержащих нетоксичные, высокоэффективные вещества, не относящихся к «допингам». К таким веществам относятся фитоэкдистероиды, содержащиеся в *Rhaponticum carthamoides* (Willd) DC. Экдистероиды *R. carthamoides* обладают анаболической активностью [3, 6, 8], оказывают благотворное влияние на нервную, сердечную системы, сексуальную и репродуктивную функции организма [8].

В корнях и семенах *R. carthamoides* содержится около 20 соединений стероидной природы, основными из которых являются 20-гидроксиэкдизон (экдистерон), инокостерон, аюгастерон, интегристерон, 29-гидрокси-24(28)-дигидромакистерон С и макистерон С [1, 7, 8]. Содержание экдистерона в различных частях растения составляло 0,04–0,81 %, 0,03–1,22 % и 0,27–1,51 % в корнях, надземной части и семенах, соответственно [8]. Метод ВЭЖХ характеризуется достаточно высокой чувствительностью для обнаружения экдистероидов, селективностью определения и включен в фармакопейную статью на лекарственные формы из *R. carthamoides* [4]. Содержание экдистероидов в растительном сырье и лекарственных средствах, содержащих *R. carthamoides* определяют методом абсолютной калибровки и по методу внутреннего стандарта с использованием парацетамола [2, 5]

Цель работы: — качественное обнаружение и количественное определение содержания экдистерона в 15-компонентном адаптогенном средстве, содержащем 13 % корней *Rhaponticum carthamoides* (Willd) DC методом ВЭЖХ.

МЕТОДИКА

5,0 г Адаптофита экстрагировали 40% этиловым спиртом в соотношении сырье: экстрагент (1:10), спиртовое извлечение анализировали на хроматографе Agilent 6330 Ion Trap с масс-спектрометрическим детектором Ultra Scan и УФ-детектированием (г. Улан-Удэ).

Количественное определение экдистерона по методу абсолютной калибровки выполнено на хроматографе GILSTON, модель 305 (производитель — Франция); инжектор ручной, модель RHEODYNE 7125 (USA) с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы Мультихром для «Windows» (ВИЛР, г. Москва). В качестве неподвижной фазы была использована металлическая колонка размером 4,6 × 250 мм Kromasil C18, с размером частиц 5 мкм, в качестве подвижной фазы метанол — вода — фосфорная кислота (40:60:0,5). Скорость подачи элюента 0,8 мл/мин, время — 50 мин, детектирование проводилось с помощью УФ-детектора «GILSTON» UV/VIS модель 151, при длине волны 242 нм.

Исходную смесь Адаптофита дважды экстрагировали при комнатной температуре 80 %-ным спиртом этиловым. Извлечение фильтровали, шрот экстрагировали 40 %-ным спиртом на водяной бане при температуре 100 °С дважды, затем кипящей водой в течение 30 мин. Полученные извлечения объединили, спирт отогнали на роторном испарителе, водный остаток высушили под вакуумом. Выход экстракта сухого — 38,73 % от массы исходной смеси Адаптофита.

В хроматограф вводили по 20 мкл исследуемого раствора и раствора РСО и хроматографировали в выше приведенных условиях. Идентификацию экдистерона проводили по сравнению времени удерживания стандартного образца.

Расчёт количественного содержания экдистерона производили методом абсолютной калибровки с помощью компьютерной программы. Количественное содержание экдистерона вычисляли по формуле:

$$X\% = \frac{S \times C \times 25 \times 100 \times 100}{S_{CT} \times 50 \times m \times (100 - W)},$$

где: S — площадь пика экдистерона в исследуемом растворе; S_{CT} — площадь пика стандартного раствора РСО экдистерона; C — концентрация РСО экдистерона, г; m — навеска исследуемого образца, г; W — потеря в массе при высушивании, %.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При комбинированном детектировании анализируемого спиртового раствора Адаптофита отражается природа состава исследуемой смеси, а при УФ-детектировании достоверно регистрируются сигналы хромофорсодержащих компонентов Адаптофита, отражающие их структурные особенности. Стероидные соединения *R. carthamoides*, содержащие ароматические структурные фрагменты,

α , β -ненасыщенный карбонильный структурный фрагмент, определяются при регистрации поглощения при 240 — 280 нм. Экдистерон имеет полосу поглощения в УФ спектре при 242 — 248 нм, а в масс-спектре должны наблюдаться интенсивные пики с m/z 481 $[M + H]$, 463 $[M + H - H_2O]$, 442 $[M + H - H_2O]$, 427 $[M + H - H_2O]$ [1, 7, 8].

В ходе детектирования в течение 30,8 мин спиртового раствора Адаптофита на хроматограмме зарегистрированы сигналы 81 веществ при 190 — 400 нм (рис. 1).

Анализ спектральных (УФ, МС) данных обнаруженных веществ показал, что вещество с характерными для экдистерона данными на хроматограмме отсутствует.

Для достоверного обнаружения экдистерона в Адаптофите использован экстракт сухой, в котором концентрация минорных веществ более высокая. ВЭЖХ-анализ выполнен с использованием стандартного вещества экдистерона.

На хроматограмме экстракта сухого Адаптофита регистрируются 6 пиков разной интенсивности (рис. 2). Экдистерон с временем удерживания 22,92

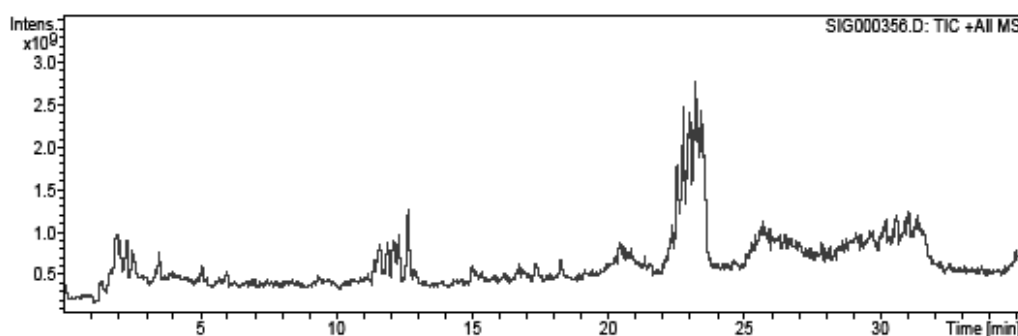


Рис. 1. Хроматограмма спиртового раствора Адаптофита.

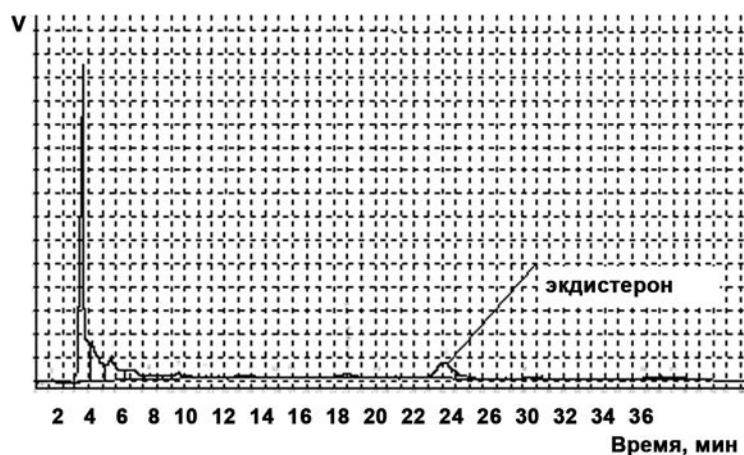


Рис. 2. Хроматограмма экстракта сухого Адаптофита.

Таблица 1
Хроматографические данные стандартного образца экдистерона и экстракта сухого Адаптофита

Время удерживания, мин	Высота пика, mV	Площадь пика, mV×сек	Площадь, в %	Название вещества
22,7	400,80	29636,72	30,8	Экдистерон (PCO)
22,92	4,36	316,43	0,3288	Экдистерон Адаптофита

мин идентифицирован по сравнению со стандартным образцом. Количественное содержание экдистерона вычислено по методу абсолютной калибровки по вышеприведенной формуле и составляет 0,06 % (табл. 1).

Проведенные опыты показали, что в 15 компонентном адаптогенном средстве Адаптофит, в состав которого входят 13 % корней *R. carthamoides*, возможно качественно определить присутствие основного фитоэкдистероида — экдистерона методом ВЭЖХ в присутствии стандартного образца. Количественное содержание экдистерона в Адаптофите ниже 0,1 % и находится в пределах ошибки метода, что затрудняет проблему стандартизации Адаптофита по содержанию экдистерона.

Таким образом, в экстракте сухом Адаптофита в присутствии достоверного образца идентифицировано основное стероидное вещество *Rhaponticum carthamoides* (Willd) DC. — экдистерон со временем удерживания — 22,92 мин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балтаев У.А., Абубакиров Н.К. Фитоэкдистероиды *Rhaponticum carthamoides* // Химия природных соединений. — 1987. — № 5. — С. 681—684.
2. Биляч Я.И. Исследование и стандартизация лекарственного средства для повышения физической работоспособности: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. — Пятигорск, 2009. — 23 с.
3. Гаджиева Р.М., Португалов С.Н., Панюшкин В.В., Кондратьева И.И. Сравнительное из-

учение анаболизирующего действия препаратов растительного происхождения экдистена, левотона и «Прайм-Плас» // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 1995. — № 5. — С. 46—48.

4. Корневище с корнями рапontiкума сафлоровидного (левзеи сафлоровидной). Фармакопейная статья ФС 42-2707-90. — М.: Минздрав СССР, 1990. — 7 с.

5. Пунегов В.В., Савиновская Н.С. Метод внутреннего стандарта для определения экдистероидов в растительном сырье и лекарственных формах с помощью ВЭЖХ // Растит. ресурсы. — 2001. — Т. 37, Вып. 1. — С. 97—102.

6. Сыров В.Н. Фитоэкдистероиды: биологические эффекты в организме высших животных и перспективы использования в медицине // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 1994. — № 5. — С. 61—66.

7. Buděšínský M., Vokáč K., Harmatha J., Cvačka J. Additional minor esdysteroid components of *Leuzea carthamoides* // Steroids. — 2008. — Vol. 73. — P. 502—514.

8. Kokoska L., Janovska D. Chemistry and pharmacology of *Rhaponticum carthamoides*: A review // Phytochemistry. — 2009. — Vol. 70. — P. 842—855.

9. Rubin V.G., Pavel K.G., Karaulov A.E. Aspects of application of high performance liquid chromatography in analysis of fatty acids, carotenoids and sterols in lipids and lipid preparations from marine organisms // Problems of Fisheries. — 2006. — Vol. 7, N 2 (26). — P. 304—317.

Сведения об авторах

Лубсандоржиева Пунцык-Нима Базыровна — кандидат фармацевтических наук, старший научный сотрудник лаборатории медико-биологических исследований ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; e-mail: bpunsic@mail.ru)

Болданова Наталья Батлаевна — старший научный сотрудник лаборатории химии природных систем ФГБУН Байкальский институт природопользования СО РАН