

ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ НАСТОЕК БАПТИЗИИ

Д.А. Никишин^{1*}, Н.С. Терёшина¹, доктор фармацевтических наук,
В.Н. Ташлицкий², кандидат фармацевтических наук

¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова;
Российская Федерация, 119991, Москва, Трубецкая ул., д.8, стр. 2

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова;
Российская Федерация, 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д.1, стр. 3

Введение. Препараты из корней баптизии красильной используются в медицине в основном при инфекционных и онкологических заболеваниях. Сырьё содержит хинолизидиновые алкалоиды, фенольные соединения, кумарины, дубильные вещества, тритерпеновые сапонины, гликопротеины, полисахариды.

Цель исследования – сравнительное изучение фенольных соединений настоек гомеопатических корней баптизии.

Материал и методы. Объектами исследования служили гомеопатические настойки, полученные из свежих и высушенных корней баптизии. Исследование проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Результаты. В гомеопатических настойках баптизии установлено присутствие 18 соединений фенольной структуры. По временам удерживания и масс-спектрам предположительно идентифицировано 10 соединений.

Заключение. Гомеопатические матричные настойки баптизии, полученные из свежих и высушенных корней, имеют различный качественный и количественный состав фенольных соединений.

Ключевые слова: баптизия красильная, *Baptisia tinctoria* (L.) R.Br., гомеопатическая настойка, фенольные соединения, флавоноиды, ВЭЖХ.

*E-mail: dmitrynikishin11@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Баптизия красильная – *Baptisia tinctoria* (L.) R.Br. – североамериканское травянистое растение, семейства бобовых (*Fabaceae*). В народной медицине настойки баптизии используются при острых инфекционных заболеваниях (брюшной тиф, скарлатина) и онкологических заболеваниях. В гомеопатии препараты баптизии красильной назначаются при тяжелых инфекционных заболеваниях, в частности при их септическом течении. Настойка гомеопатическая матричная баптизии в гомеопатических разведениях используется как в моно-, так и комплексных препаратах [1–3]. Широкий спектр биологической активности препаратов баптизии обусловлен богатым составом биологически активных веществ (БАВ). По данным литературы, корни баптизии содержат хинолизидиновые алкалоиды, кумарины, дубильные вещества, тритерпеновые сапонины, гликопротеины и полисахариды. Обнаружены также фенольные соединения, в том числе флавоноиды: баптигенин, псевдобаптигенин, формонетин, маакиаин, генистеин, дайдзеин, баптизин, псевдобаптизин, трифолиризин, формонетин-7-О-β-D-рутинозид, псевдобаптигенин-7-О-β-D-рутинозид, апигенин-7-О-β-D-глюкозид, лютеолин-7-О-β-D-рутинозид [4–11].

Известно, что некоторые изофлавоны (генистеин, формонетин) проявляют эстрогенную активность; маакиаин, флавоноид из группы птерокарпанов, обладает фунгицидными свойствами [12]. При онкологических заболеваниях рекомендуется применять препараты баптизии, что обусловлено присутствием апигенина; есть данные о торможении прогрессирования рака предстательной железы [13].

В гомеопатических препаратах растительного происхождения биологическую активность оказывают соединения всех классов, входящих в состав сырья. Поэтому изучение

всего спектра соединений в составе препаратов – необходимое условие при их стандартизации. Сырьем для получения настоек гомеопатических матричных (НГМ) баптизии красильной служат свежие и высушенные корни.

Целью исследований явилось изучение фенольных соединений НГМ баптизии красильной, полученных из свежего и высушенного сырья.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Сырьем для получения НГМ служили свежие и высушенные корни баптизии красильной (*Baptisia tinctoria* (L.) R.Br.), заготовленные в 2014–2015 гг. в Ботаническом саду ВИЛАР.

Получение настоек из свежего и высушенного лекарственного растительного сырья баптизии красильной проводили методами мацерации с использованием спирта 86% (по массе) для свежего сырья и спирта 62% (по массе) для высушенного сырья.

Исследование проводили на хроматографе Waters ACQUITY UPLC/TQD®, состоящем из бинарного градиентного насоса, автосамплера, колоночного термостата, диодно-матричного детектора и тандемного квадрупольного масс-детектора. *Условия хроматографирования:* стальная колонка 2,1×150 мм, заполненная сорбентом Acquity VEN C18; размер частиц – 1,7 мкм; (Waters); температура колонки – 35°C. Подвижная фаза: элюент А: 20 мМ раствор муравьиной кислоты в 5% водном ацетонитриле, элюент Б: 20 мМ раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. Скорость потока – 0,3 мл/мин, объем инъекции – 5 мкл, режим элюирования – градиент элюентов А и Б (табл. 1), время анализа – 30 мин, УФ-детектирование при длине волны 220–500 нм.

Условия детектирования 1: режим электрораспыления – позитивный (ES+); рабочий режим – MS1; диапазон масс – 100–1500; температура источника ионов – 120°C; температура испарения – 450°C; напряжение на конусе – 43В; напряжение на капилляре – 4,0 кВ. *Условия детектирования 2:*

режим электрораспыления – негативный (ES-); рабочий режим – MS1; диапазон масс – 100–1500; температура источника ионов – 120°C; температура испарения – 450°C; напряжение на конусе – 35В; напряжение на капилляре – 3,0 кВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение фенольных соединений гомеопатических настоек баптизии красильной из свежих (образец 1) и высушенных корней (образец 2) основывалось на ВЭЖХ-исследовании времен удерживания и масс-спектров известных и ожидаемых по данным литературы соединений. Поиск заданных веществ осуществлялся в режиме регистрации положительных и отрицательных ионов, что позволяет оценивать не только различные гликозидированные формы, но и агликон благодаря частичной фрагментации при ионизации. Пик с временем удерживания 12,5 мин имел массы ионов в режиме регистрации положительных и отрицательных ионов 255 и 253 соответственно и может быть идентифицирован как изофлавоон даидзеин (табл. 2). 3 пика с массой фрагмента 269 в режиме положительных ионов имели сходные УФ-спектры с временами удерживания 12,3, 14,7 и 19,6 мин. Предположительно пик с временем удерживания 19,6 мин является изофлавоном формононетином, а пик с временем удерживания 12,3 мин имеет массу иона M+N=431 (в режиме положительных ионов) и M+HCO₂=475 (в режиме отрицательных ионов), что, возможно, соответствует структуре формононетин-7-О-β-D-глюкозида (см. табл. 2). Пик с временем удерживания 14,7 мин имеет M+N=517 (в режиме положительных ионов) и M₂-H=1031 (в режиме отрицательных ионов). Ни один из пиков не соответствует формононетин-7-О-β-D-рутинозиду (M+N=577).

Таблица 1

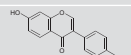
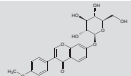
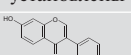
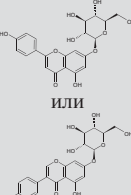
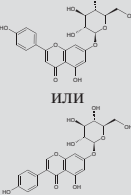
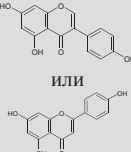
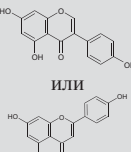
ГРАДИЕНТ ЭЛЮЕНТОВ А И Б ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В НАСТОЙКАХ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ МАТРИЧНЫХ БАПТИЗИИ

Время, мин	Элюент А, %	Элюент Б, %
0,0	95	5
30,0	50	50
32,0	0	100
33,0	95	5
36,0	95	5

Были получены 4 пика с массой фрагмента 271 в режиме положительных ионов с временами удерживания 8,4, 9,7, 10,1 и 16,1 мин. Пики 10,1 и 16,1 мин предположительно являются агликонами, поскольку имели только ионы 271 в режиме положительных ионов и 269 в режиме отрицательных ионов и соответствовали структурам генистеина и апигенина. Пики 8,4 и 9,7 мин имели ион M+N=433 в режиме положительных ионов и M-H=431 в режиме отрицательных ионов. Этим пикам могут соответствовать структуры апигенин-7-глюкозида и генистеин-7-глюкозида или один из их возможных изомеров (табл. 2).

Таблица 2

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ НАСТОЕК БАПТИЗИИ КРАСИЛЬНОЙ

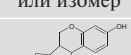
Название компонента по иону фрагмента – аглюкона	Предполагаемое название компонента	Время удерживания компонента, мин	Основные ионы масс-спектра в режиме регистрации позитивных ионов	Основные ионы масс-спектра в режиме регистрации негативных ионов	Предполагаемые структуры
229-1	Не установлено	3,31	553(M+H), 391, 229	597(M+ HCO ₂), 551(M-H), 389	Не установлены
229-2	Не установлено	5,72	391(M+H), 229	435(M+ HCO ₂), 389(M-H), 227	Не установлены
229-3	Не установлено	7,56	391(M+H), 229	435(M+ HCO ₂), 389(M-H), 227	Не установлены
229-4	Не установлено	11,52	229(M+H)	227(M-H)	Не установлены
255	Даидзеин	12,49	255 (M+H), 277 (M+Na)	253(M-H)	
269-1	Формононетин-7-О-β-D-глюкозид	12,31	431(M+H), 269	475(M+ HCO ₂), 267	
269-2	Производное формононетина	14,71	517(M+H), 269	1031(M*2-H), 267	Не установлены
269-3	Формононетин	19,58	269(M+H)	267(M-H)	
271-1	Апигенин-7-глюкозид или генистеин-7-глюкозид	8,45	433(M+H), 271	478(M+ HCO ₂), 459, 431(M-H), 297, 227	
271-2	Апигенин-7-глюкозид или генистеин-7-глюкозид	9,65	455(M+Na), 433(M+H), 271	431(M-H), 227	
271-3	Апигенин или генистеин	10,07	271(M+H)	269(M-H)	
271-4	Апигенин или генистеин	16,04	71(M+H)	269(M-H)	

Пик с временем удерживания 19,0 мин, массой иона 283 (M+H) и 305 (M+Na) в режиме положительных ионов и 281 (M-H) в режиме отрицательных ионов соответствует структура псевдобаптигенина (см табл. 2). Других пиков, содержащих фрагмент с массой иона 283 в режиме положительных ионов, не наблюдалось. Также были получены 2 пика со схожими УФ-спектрами и массой иона 285 (M+H) в режиме положительных ионов и 283 (M-H) в режиме отрицательных ионов, с временами удерживания 13,1 и 13,9 мин. Эти пики могут соответствовать структуре маакиаина и его возможного изомера (см. табл. 2).

Пик с временем удерживания 21,2 мин имел принципиально отличный УФ-спектр, но такую же массу иона 285 (M+H) в режиме положительных ионов и 283 (M-H) в режиме отрицательных ионов. Кроме того, в режиме положительных ионов наблюдалась фрагментация молекулярного иона с образованием ионов с массой 123, 151 и 175.

Пик с временем удерживания 14,2 мин также содержал ион фрагмента 285 в режиме положительных ионов с такой фрагментацией до 123, 151 и 175, но с молекулярным ионом 447 (M+H) в режиме положительных ионов и 491 (M+HCO₂) в режиме отрицательных ионов. Возможно, данный пик соответствует глюкозиду компонента с временем удерживания 21,2 мин. Наблюдавшемуся пику с массой иона 287 (M+H) в режиме положительных ионов и 285 (M-H) в режиме отрицательных ионов с временем удерживания 13,0 соответствует структура баптигенина (см. табл. 2).

В ходе исследования выявлено присутствие 4 пиков с массами фрагментов 229 (M+H) и 227 (M-H) в режиме положительных и отрицательных ионов соответственно, с временами удерживания 3,3; 5,7; 7,6 и 11,5 мин. Пик с временем удерживания 11,5 мин предположительно является агликоном и может иметь структуру эйксантона (1,7-дигидроксиксантон). Остальные пики могут содержать в своем составе этот фрагмент. Пики с временами удерживания 5,7 и 7,6 мин, возможно, указывают на глюкозиды, поскольку имеют ион 391 (M+H) в режиме положительных ионов и ионы 389 (M-H),

Название компонента по иону фрагмента – агликона	Предполагаемое название компонента	Время удерживания компонента, мин	Основные ионы масс-спектра в режиме регистрации позитивных ионов	Основные ионы масс-спектра в режиме регистрации негативных ионов	Предполагаемые структуры
283	Псевдобаптигенин	18,95	305(M+Na), 283(M+H)	281(M-H)	
285-1	Маакиаин или его изомер	13,17	285(M+H)	283(M-H)	 или изомер
285-2	Маакиаин или его изомер	13,85	285(M+H)	283(M-H)	 или изомер
285-3	Не установлено	14,16	447(M+H), 285, 175, 151, 123	491(M+ HCO ₂), 283, 169	Не установлены
285-4	Не установлено	21,19	285(M+H), 175, 151, 123	283(M-H), 169	Не установлены
287	Баптигенин	12,96	287(M+H)	285(M-H), 169	

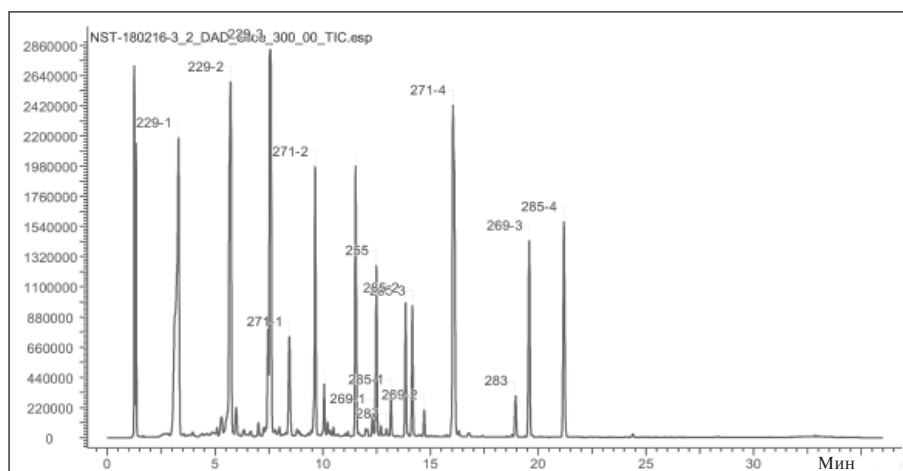


Рис. 1. Хроматограмма фенольных соединений образца 1 настойки баптизии, полученной из свежих корней (при 300 нм)

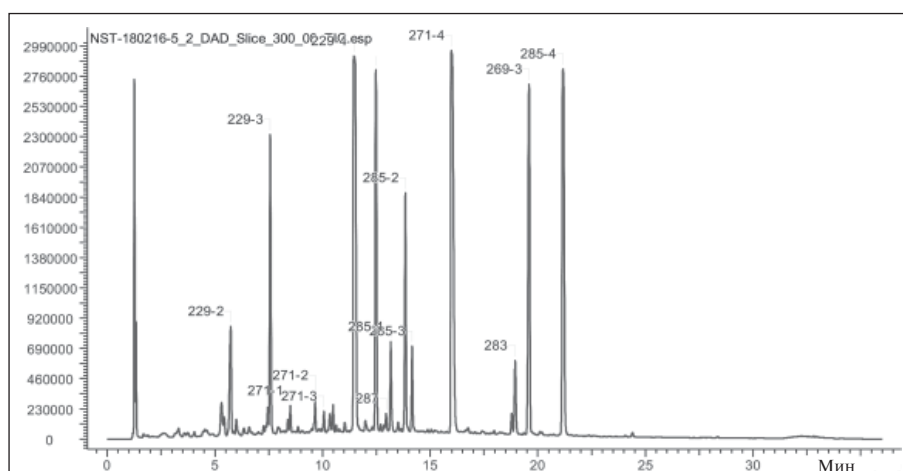


Рис. 2. Хроматограмма фенольных соединений образца 2 настойки баптизии, полученной из высушенных корней (при 300 нм)

Таблица 3

**СРАВНЕНИЕ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ НАСТОЕК БАПТИЗИИ
КРАСИЛЬНОЙ ПО СОДЕРЖАНИЮ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

Компонент с массовой фрагмента-аглокона	Время удерживания, мин	Площади пиков на массовых хроматограммах		Соотношение содержания соединения в образцах 1/2, %
		образец 1	образец 2	
229-1	3,29	4,48E+12	--	0,0
229-2	5,72	7,93E+12	3,51E+12	44,2
229-3	7,56	1,41E+13	8,29E+12	58,7
229-4	11,52	3,61E+12	1,2E+13	332,2
255	12,47	1,92E+13	2,64E+13	137,7
269-1	12,29	5,78E+12	5,28E+11	9,1
269-2	14,69	3,03E+12	--	0,0
269-3	19,58	3,04E+13	3,56E+13	117,4
271-1	8,43	3,02E+12	--	0,0
271-2	9,67	2,55E+12	4,67E+12	183,3
271-3	10,08	7,77E+12	4,35E+12	55,9
271-4	12,08	1,69E+12	--	0,0
271-5	16,04	3,34E+13	4,46E+13	133,6
283	18,93	1,30E+13	1,67E+13	128,7
285-1	13,17	1,02E+13	1,59E+13	155,1
285-2	13,85	1,88E+13	2,2E+13	117,3
285-3	14,19	6,01E+12	5,26E+12	87,5
285-4	21,19	4,96E+12	7,82E+12	157,6
287	12,96	1,96E+12	4,13E+12	211,4

435 (M+HCOO) в режиме отрицательных ионов. Пик с временем удерживания 3,3 мин предположительно является диглюкозидом, поскольку наряду с фрагментом 391 в режиме положительных ионов наблюдается молекулярный ион 553 (M+H), а в режиме отрицательных ионов присутствует ион 551 (M-H).

На следующем этапе исследования был проведен сравнительный анализ состава фенольных соединений в настойках баптизии из свежего и высушенного сырья (рис. 1, 2). Для уточнения полученных результатов сравнения площадей пиков были использованы массовые хроматограммы в режиме регистрации позитивных ионов (фрагментов 229, 255, 269, 271, 283, 285 и 287).

В ходе исследования установлено, что настойки баптизии имеют различный качественный и количественный

состав фенольных соединений (табл. 3). Например, концентрация компонентов, содержащих фрагмент 229-1-3 в образце 2 по сравнению с образцом 1, снижается в 2 и более раз, а концентрация компонента 229-4 возрастает более чем в 3 раза. Это объясняется тем, что при высушивании сырья гликозиды частично превращаются в агликоны. Таким образом, настойки из разного вида сырья не могут быть равнозначными по составу фенольных соединений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При изучении качественного состава веществ фенольного характера в настойках гомеопатических матричных методом ВЭЖХ было установлено присутствие 18 веществ, из которых по временам удерживания и масс-спектрам предположительно идентифицировано 10 соединений. Состав фенольных соединений в гомеопатических настойках из свежих и высушенных корней баптизии различается, что обусловлено частичным превращением гликозидов в агликоны при высушивании сырья.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Classen B., Thude S., Blaschek W. et al. Immunomodulatory effects of arabinogalactan-proteins from *Baptisia* and *Echinacea*. *Phytomedicine*, 2006; 13: 688–94.
2. Homeopathy *Baptisia Wild Indigo*. Режим доступа: <http://www.herbs2000.com/homeopathy/baptisia.htm>.
3. Sandoval C.H., Morfin L.L., Lopez B.B. Preliminary research for testing *Baptisia tinctoria* 30c effectiveness against salmonellosis in first and second quality broiler chickens. *British Homeopathic Journal*, 1998; 87: 131–4.
4. Патудин А.В., Терёшина Н.С., Мищенко В.С., Ильенко Л.И. Биологически активные вещества гомеопатического лекарственного сырья. М.: Знак, 2009; 588. (Patudin A.V., Teryoshina N.S., Mishenko V.S., Ilenko L.I. Biologically active substances of homeopathic medicinal raw materials. Moscow: Znak, 2009; 588) (in Russian).
5. Alston R.E. Flavonoid Chemistry of *Baptisia*: A Current Evaluation of Chemical Methods in the Analysis of Interspecific Hybridization. *Taxon*, 1965; 14 (8): 268–74.
6. Harborne J.B., Baxter H., Moss G.P. *Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants*. London: Taylor & Francis Ltd, 1999; 961.
7. Bajaj Y.P.S. *Biotechnology in Agriculture and Forestry 28. Medicinal and Aromatic Plants VII*. Springer Science & Business Media; 2013: 475.
8. Udayama M., Kinjo J., Nohara T. Triterpenoidal saponins from *Baptisia australis*. *Phytochemistry*, 1998; 48 (7): 1233–5.
9. Wack M., Classen B., Blaschek W. An acidic arabinogalactan – protein from the roots of *Baptisia tinctoria*. *Planta Medica*, 2005; 71 (9): 814–8.
10. Harnischfeger G., Stolze H. *Bewährte Pflanzendrogen in Wissenschaft und Medizin*. Notamed Verlag, Bad Homburg: Melsungen, 1983; 296.
11. Comparison of total phenolic content in *Baptisia tinctoria* root and indigo root of different origin. Режим доступа: <http://www.global-summit.com/speaker-pdfs/2014/wai-kun-chan-national-taiwan-university-taiwan.pdf>.
12. Головкин Б. Н. и др. Биологически активные вещества растительного происхождения. Маакиаин (maackiain). М.: Наука, 2001; 764. (Golovkin B.N. et al. Biologically active substances of plant origin. Maackiain. Moscow: Nauka, 2001; 764) (in Russian).
13. Shukla S., Bhaskaran N., Babcock M.A. et al. Apigenin inhibits prostate cancer progression in TRAMP mice via targeting PI3K/Akt/FoxO pathway. *Carcinogenesis*, 2014; 35 (2): 452–60.

Поступила 26 июня 2016 г.

INVESTIGATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN HOMEOPATHIC INDIGO (*BAPTISIA*) TINCTURES

D.A. Nikishin¹, N.S. Teryoshina¹, PhD; V.N. Tashlitsky², PhD

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 19991, Russian Federation;

²Faculty of Chemistry, M.V. Lomonosov Moscow State University; 1, Leninsky Gory, Build. 3, GSP-1, Moscow 119991, Russian Federation

SUMMARY

Introduction. Wild indigo (*Baptisia tinctoria*) roots are used in medicine mainly to treat infectious diseases and cancer. The raw material contains quinolizidine alkaloids, phenolic compounds, coumarins, tannins, triterpene saponins, glycoproteins, and polysaccharides.

Objective: to comparatively investigate homeopathic matrix tinctures of indigo roots.

Material and methods. Homeopathic tinctures from fresh and dried indigo roots were matters for this investigation that was conducted by high performance liquid chromatography using a chromatograph.

Results. The homeopathic indigo roots were found to contain 18 phenolic compounds. Ten compounds were admittedly identified by retention times and mass spectra.

Conclusion. Homeopathic matrix tinctures from fresh and dried indigo roots have different qualitative and quantitative phenolic compositions.

Key words: wild indigo, *Baptisia tinctoria* (L.) R.Br., homeopathic tincture, phenolic compounds, flavonoids, high performance liquid chromatography.