

ИССЛЕДОВАНИЕ АЛКАЛОИДОВ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ НАСТОЕК БАПТИЗИИ

Д.А. Никишин^{1*}, Н.С. Терёшина¹, доктор фармацевтических наук,
В.Н. Ташлицкий², кандидат химических 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, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

Введение. Препараты баптизии красильной (*Baptisia tinctoria* (L.) Vent.) в гомеопатии используются при тяжелых инфекционных заболеваниях. Корни растения содержат флавоноиды, кумарины, дубильные вещества, тритерпеновые сапонины, гликопротеины, полисахариды, хинолизидиновые алкалоиды.

Цель исследования – изучение алкалоидов настоек матричных гомеопатических баптизии.

Материал и методы. Объектами исследования служили гомеопатические матричные настойки, полученные из свежих и высушенных корней баптизии. Исследование проводили методом ВЭЖХ на хроматографе Waters ACQUITY UPLC/TSQD®.

Результаты. При изучении алкалоидного состава гомеопатических настоек баптизии установлено присутствие хинолизидиновых алкалоидов: цитизина, N-метилцитизина, термопсамина, спартеина. В настойке из высушенного сырья содержание цитизина, N-метилцитизина и спартеина незначительно изменяется, концентрация термопсамина уменьшается в 3 раза. Содержание цитизина в настойках составляет около 0,3 мг/мл.

Заключение. В матричных гомеопатических настойках из корней баптизии красильной установлено наличие цитизина, N-метилцитизина, спартеина и алкалоида термопсамина, найденного ранее только в надземной части растения. Матричные настойки из свежих и высушенных корней отличаются по содержанию термопсамина.

Ключевые слова: баптизия красильная, *Baptisia tinctoria* (L.) Vent., матричная настойка, алкалоиды, цитизин, N-метилцитизин, спартеин, термопсамин, ВЭЖХ.

*E-mail: dmitrynikishin11@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы особое внимание многих исследователей приковано к растениям, которые применяются в гомеопатии. Одним из таких растений является баптизия красильная [*Baptisia tinctoria* (L.) Vent.], многолетнее травянистое растение семейства бобовых (*Fabaceae*). В народной ме-

дицине корни баптизии используются при острых инфекционных заболеваниях, а также при онкологии разной этиологии и тяжелом течении гриппа. В гомеопатии препараты баптизии красильной обычно используются при тяжелых инфекционных заболеваниях, в частности при тифе, гриппе и др. В настоящее время баптизия входит в состав иммуномодулирующих препаратов [1–3]. По данным литературы, сырье баптизии содержит флавоноиды,

кумарины, дубильные вещества, тритерпеновые сапонины, гликопротеины и полисахариды. Основной группой биологически активных веществ (БАВ) корней баптизии являются хинолизидиновые алкалоиды. Кроме того, в растении были обнаружены спартеин, N-метилцитизин, цитизин, анагирин, баптифолин, афиллин, виргилин [4–10]. Фармакологическая активность препаратов баптизии обусловлена всем комплексом БАВ, входящих в состав сырья, поэтому комплексное изучение всего спектра БАВ в составе препаратов является необходимым условием при их стандартизации. Для получения настоек гомеопатических матричных (НГМ) баптизии используются свежие и высушенные корни.

Цель исследований – сравнительное изучение алкалоидов настоек гомеопатических матричных (НГМ) баптизии, изготовленных из свежих и высушенных корней.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Сырьем для получения НГМ служили свежие и высушенные корни культивируемых растений баптизии красильной, заготовленные в 2014–2015 гг. в ботаническом саду ВИЛАР.

Матричные настойки готовили методом мацерации в соответствии с общей фармакопейной статьей «Настойки гомеопатические матричные»: из свежего измельченного сырья по методу 3 с использованием спирта 86% (по массе), из высушенного сырья – по методу 4 со спиртом 62% (по массе).

Исследование проводили на хроматографе Waters ACQUITY UPLC/TQD®, состоящем из бинарного градиентного насоса, автосамплера, колонного термостата, диодно-матричного детектора и тандемного квадрупольного масс-детектора. Условия хроматографирования-1: колонка стальная 2,1×50 мм, заполненная сорбентом Acquity BEH C18; размер частиц – 1,7 мкм; температура колонки – 35°C.

Для анализа гидрофильных соединений, которые не удерживаются в стандартных обращенно-фазных условиях, был разработан метод с использованием гептафтормасляной кислоты в составе подвижной фазы: элюент А – 0,1% водный раствор гептафтор-

масляной кислоты (HFBA), элюент Б – ацетонитрил. Скорость потока – 0,5 мл/мин; объем инъекции – 2 мкл; режим элюирования – градиент элюентов А и Б (табл.1); время анализа – 5,1 мин.

Условия детектирования: режим электрораспыления – позитивный (ES+); рабочий режим – MS1; температура источника ионов – 120°C; температура испарения – 450°C; напряжение на конусе – 55 В; напряжение на капилляре – 3,5 кВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение качественного состава алкалоидов НГМ из высушенных (образец 1) и свежих (образец 2) корней баптизии красильной осуществлялось на основе ВЭЖХ-исследования времен удерживания и масс-спектров известных и ожидаемых по данным литературы хинолизидиновых алкалоидов (табл. 2). В качестве стандарта использовали раствор цитизина концентрации 0,5 мг/мл, который, по данным литературы, должен присутствовать в корнях баптизии красильной (рис. 1). В спектре стандарта цитизина наблюдались ионы 191 (M+H) и 213 (M+Na) (рис. 2). Спектр пика с близким, но отличающимся временем удерживания в образцах 1 и 2, содержали ионы 205 (M+H) и 227 (M+Na), а также ион 191, который может быть или продуктом фрагментации 205 (M+H-CH₂), или ионом M+H цитизина (рис. 3). Возможно, данное вещество соответствует структуре N-метилцитизина (см. табл. 2). Еще один продукт фрагментации – ион 148 – может иметь структуру I (рис. 4). Для решения вопроса о присутствии в НГМ только N-метилцитизина или смеси N-метилцитизина и цитизина были подобраны условия разделения, при которых пики этих соединений разрешились достаточно для идентификации. Установлено наличие обоих алкалоидов: N-метилцитизина и цитизина.

Анализ наблюдавшегося интенсивного пика с массой иона 235, спектр которого содержал, кроме иона 235 (M+H), ион 271 (M+H+H₂O), позволил предположить, что этот компонент – спартеин и его возможные изомеры – изоспартеин и b-спартеин (см. табл. 2).

Продукт фрагментации – ион 164 – может иметь структуру II, а ион 179 – структуру III (см. рис. 4). Кроме того, наблюдался достаточно интенсивный пик с массой иона 251. Его спектр содержал только массу иона 251 (M+H), что предположительно соответствует структуре термпсамина (см. табл. 2). Продукт фрагментации – ион с массой 233 может иметь структуру IV (см. рис. 4). Для остальных ожидаемых соединений пиков, соответствующих молекулярному иону M+H, достаточной интенсивности не наблюдались.

Таким образом, результаты исследования показали наличие в НГМ известных для корней бапти-

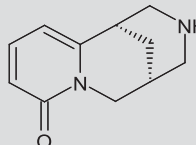
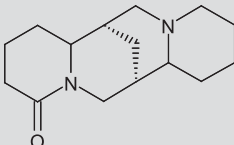
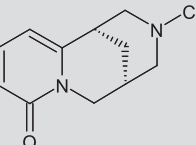
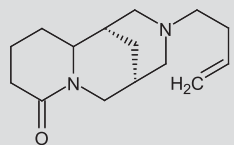
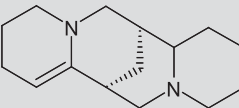
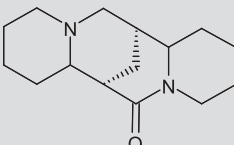
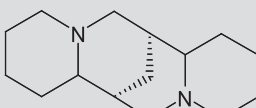
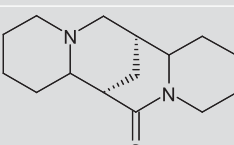
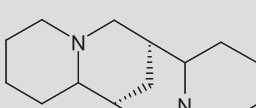
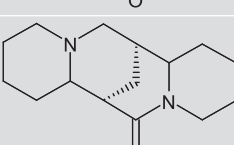
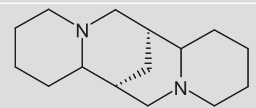
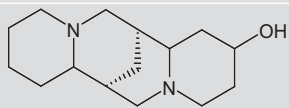
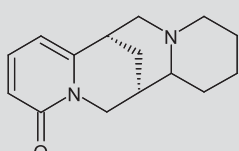
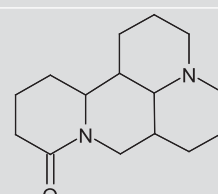
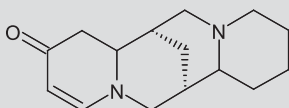
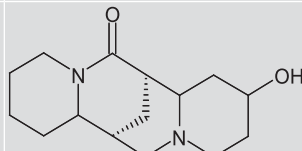
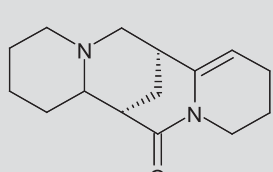
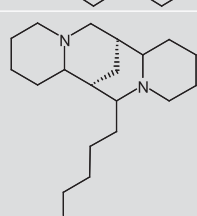
Таблица 1

РЕЖИМ ЭЛЮИРОВАНИЯ

Время, мин	Элюент А,%	Элюент Б,%
0,0	95	5
3,0	0	100
3,6	0	100
3,7	95	5
5,1	95	5

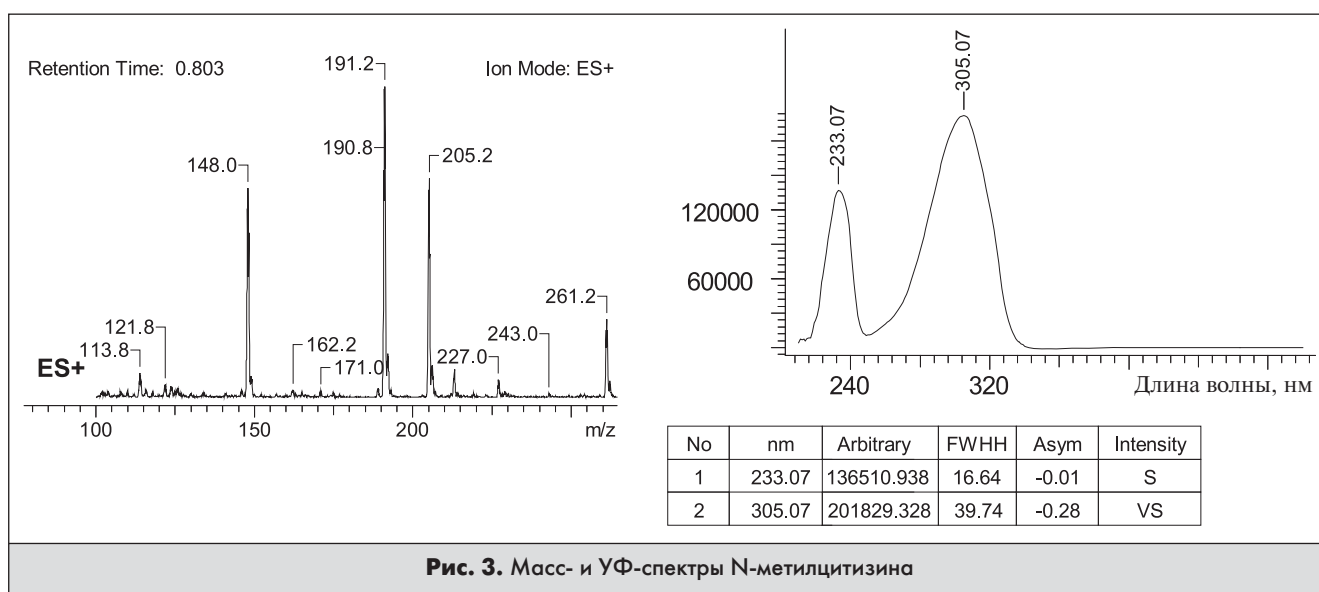
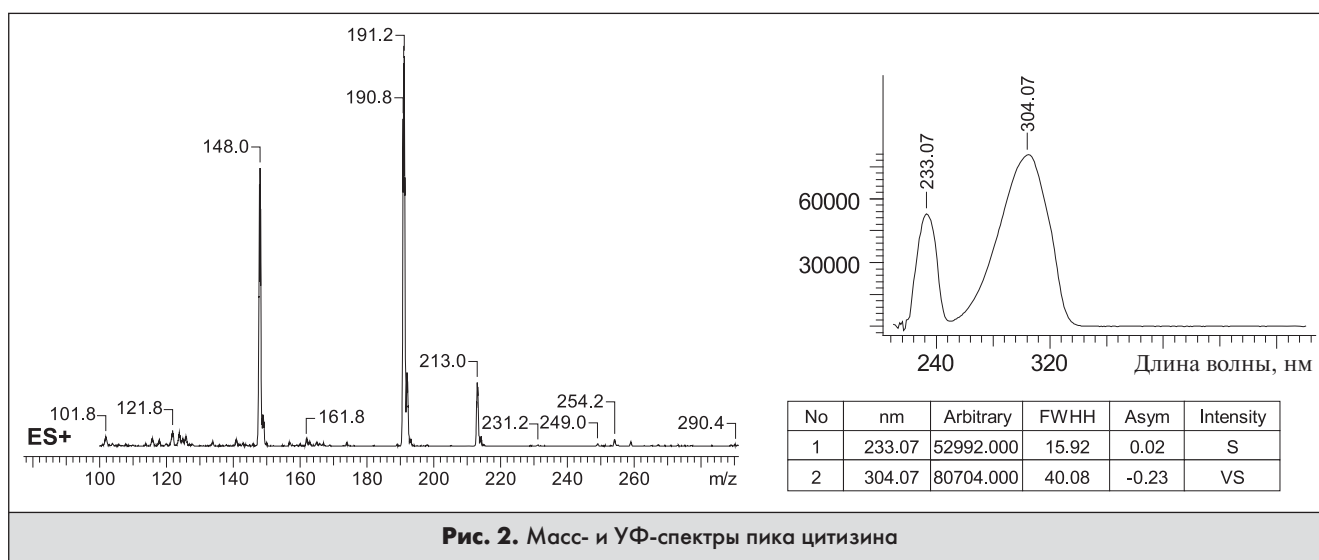
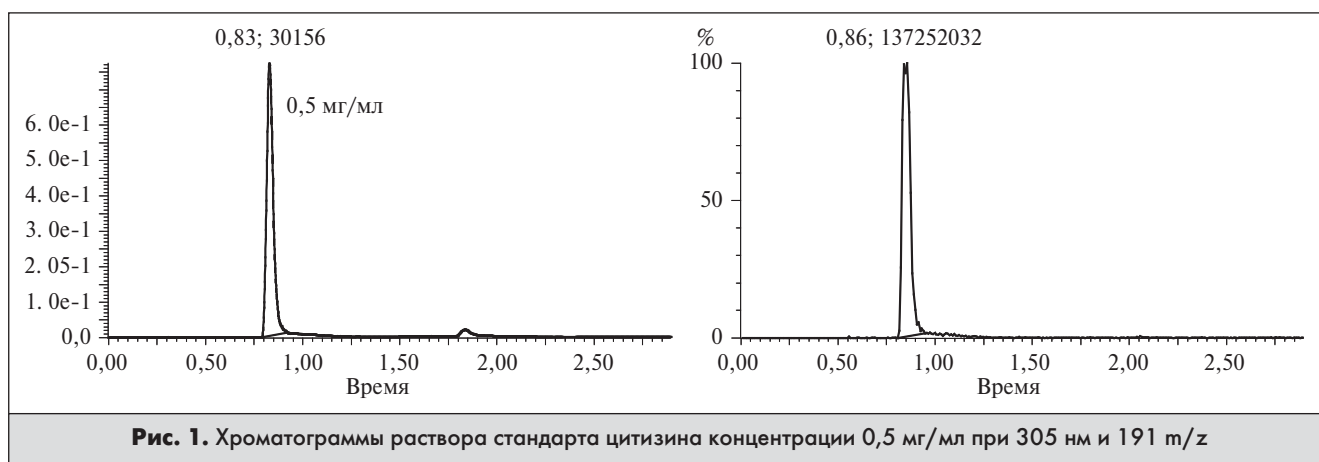
Таблица 2

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА АЛКАЛОИДОВ НАСТОЕК ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ МАТРИЧНЫХ

Ожидаемые алкалоиды	Масса иона М+Н	Структурная формула	Ожидаемые алкалоиды	Масса иона М+Н	Структурная формула
Цитизин	191		Лупанин	249	
N-метилцитизин	205		Тетрагидроомбифолин	249	
5,6-Дегидроспартеин	233		Пахикарпин	249	
Спартеин	235		17-Оксоспартеин	249	
Изоспартеин	235		17-Оксо-α-изоспартеин	249	
β-Спартеин	235		Термопсамин	251	
Анагинин	245		Мартин	263	
Мульгифлорин	247		Виргилин	265	
Афилидин	247		17-Пентилспартеин	305	

зии красильной хинолизидиновых алкалоидов: цитизина, N-метилцитизина и спартеина, а также нового для корней алкалоида термопсамина.

Сравнительный анализ содержания алкалоидов в НГМ баптизии из свежего и высушенного сырья (табл. 3) показал незначительные расхождения в со-



держании цитизина, N-метилцитизина, спартеина и его возможных изомеров. Содержание термопсамина в НГМ из высушенного сырья было в 3 раза меньше, чем в НГМ из свежего сырья. Термопсамин, 13-ги-

дрокси производное спартеина, является летучим алкалоидом. Возможно, этим объясняется уменьшение его содержания в настойке из высушенного сырья. Содержание цитизина в настойках матричных гоме-

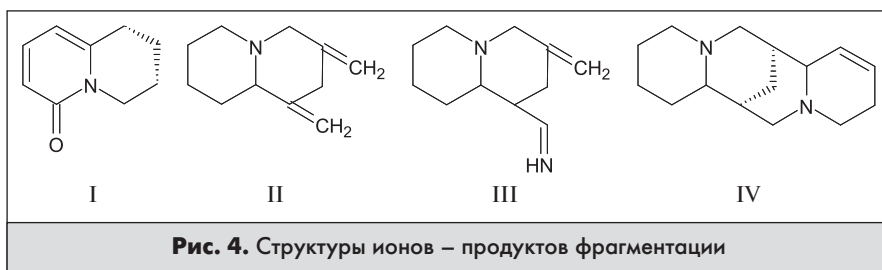


Таблица 3

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ АЛКАЛОИДОВ
В ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ МАТРИЧНЫХ НАСТОЙКАХ БАПТИЗИИ**

Показатель	Площади пиков на массовых хроматограммах (М+Н)				Концентрация, мг/мл
	191	205	251	235	
М+Н	191	205	251	235	191
Время удерживания, мин	0,82	0,8	1,04	1,18	0,82
Стандарт (цитизин) 0,5 мг/мл	8,23E+12				0,500
Образец 1	5,86E+12	4,05E+12	2,44E+12	7,07E+12	0,356
Образец 2	5,16E+12	3,67E+12	8,82E+12	1,02E+13	0,313
Соотношение содержания алкалоидов в образцах 1/2, %	113,52	110,35	27,66	69,31	—

опатических, рассчитанное по стандарту, составило около 0,3 мг/мл.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучен качественный состав алкалоидов настоек гомеопатических матричных из свежих и высушенных корней баптизии красильной методом ВЭЖХ. Установлено наличие алкалоидов, ранее выделенных из корней (цитизин, N-метилцитизина и спартеина), и алкалоида термопсамина, найденного ранее только в надземной части растения. По содержанию цитизина, N-метилцитизина и спартеина матричные

настойки баптизии из свежего и высушенного сырья отличались незначительно, но концентрация термопсамина в настойке гомеопатической матричной из высушенного сырья оказалась меньше в 3 раза.

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., Ильяшенко Л.И. Биологически активные вещества гомеопатического лекарственного сырья. М.: Знак, 2009; 588. (Patudin A.V., Teryoshina N.S., Mishchenko V.S., Ilienko 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*. Second Edition. 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.

Поступила 2 июня 2016 г.

INVESTIGATION OF THE ALKALOIDS OF 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 119991, Russian Federation;

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

Introduction. Wild indigo (*Baptisia tinctoria* (L.) Vent.) preparations are used in homeopathy to treat severe infectious diseases. The roots of the plant contain flavonoids, coumarins, tannins, triterpene saponins, glycoproteins, polysaccharides, and quinolizidine alkaloids.

Objective: to investigate the alkaloids of homeopathic matrix tinctures of indigo.

Material and methods. The objects of the investigation were homeopathic matrix tinctures from fresh and dried wild indigo roots. The investigation was conducted by HPLC using a Waters ACQUITY UPLC/TQD[®] chromatograph.

Results. Examination of the alkaloid composition of homeopathic indigo tinctures established the presence of quinolizidine alkaloids, such as cytisine, N-methylcytisine, thermopsamine, and sparteine. In the dried root tinctures, the content of cytisine, N-methylcytisine, and sparteine varied slightly and the concentration of thermopsamine showed a threefold decrease. The level of cytisine in the tinctures was about 0.3 mg/ml.

Conclusion. The homeopathic tinctures from wild indigo roots have been ascertained to contain cytisine, N-methylcytisine, sparteine, and the alkaloid thermopsamine previously found only in the aboveground part of the plant. The matrix tinctures from fresh and dried roots differ in the content of thermopsamine.

Key words: wild indigo, *Baptisia tinctoria* (L.) Vent., matrix tincture, alkaloids, cytisine, N-methylcytisine, sparteine, thermopsamine, HPLC.