

УДК 54.061:54.062

## ХИМИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ *PAPAVER KUVAJEVII*: ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТАКСИФИЛЛИНА – ОСНОВНОГО ЦИАНОГЕННОГО ГЛИКОЗИДА \*

© М.О. Коротких\*\*, А.В. Ткачев

Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН,  
пр. Акад. Лаврентьева, 9, Новосибирск, 630090 (Россия),  
e-mail: korotkih@nioch.nsc.ru

Комплекс растительных метаболитов как набор определенных веществ может быть охарактеризован химическими и физико-химическими методами анализа. Химическая характеристика подразумевает выявление набора отдельных веществ – химических маркеров, уникальных для выбранного растительного объекта, и всего видимого набора компонентов как характеристического профиля – «химического отпечатка пальцев».

Объект исследования – мак Куваева (*Papaver kuvajevii*). Новый вид мака, описан в 2003 году. Эндемик. Многолетник. Растет в степном поясе на склонах гор, скалах, осыпях, закустаренных степях. Цветет в мае – августе. Размножение семенное, июнь – сентябрь.

В данной работе разработана схема экстракционных процедур для спектроскопического профилирования мака Куваева (*Papaver kuvajevii*): измельченную воздушно-сухую надземную часть растения (без коробочек) экстрагировали в аппарате Сокслета последовательно растворителями (в порядке увеличения их полярности). Для каждого экстракта были зафиксированы ИК-, ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  профили. Методом количественного ЯМР-анализа (q-NMR) определено содержание таксифиллина в образце.

*Ключевые слова:* спектроскопическое профилирование, экстракция, *Papaver kuvajevii*, таксифиллин.

### Введение

Комплекс растительных метаболитов как набор определенных веществ может быть охарактеризован химическими и физико-химическими методами анализа. Химическая характеристика подразумевает выявление набора отдельных веществ – химических маркеров, уникальных для выбранного растительного объекта, и всего видимого набора компонентов как характеристического профиля – «химического отпечатка пальцев». Комплекс метаболитов, продуцируемых растениями, является сложной смесью низко- и высокомолекулярных органических соединений, поэтому для получения данных об их индивидуально-групповом составе используются различные методы химического профилирования. Всемирная организация здравоохранения подчеркивает важность качественных и количественных методов определения характеристик образцов и разработала руководящие принципы для научных исследований по оценке безопасности и эффективности фитопрепаратов и лекарственных трав [1]. Особенно эффективными в химическом профилировании и метаболомике являются современные двумерные и гибридные хроматографические методы – ГЖХ, ГЖХ-МС, ВЭЖХ, ВЭЖХ-МС [2–4], а также спектроскопия ЯМР [5–8].

В настоящей работе мы приводим данные по созданию схемы экстракционных процедур для спектроскопического профилирования мака Куваева (*Papaver kuvajevii* Schaulo et Sonnikova) [9] и определению

---

Коротких Михаил Олегович – младший научный сотрудник лаборатории терпеновых соединений, e-mail: korotkih@nioch.nsc.ru

Ткачев Алексей Васильевич – доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией терпеновых соединений, e-mail: atkachev@nioch.nsc.ru

содержания таксифиллина – основного цианогенного гликозида этого вида.

Объект исследования – *Papaver kuvajevii* (*Papaveraceae*), изученный нами ранее на предмет содержания алкалоидов [10]. Исследуемый нами рас-

---

\* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcrpm.2018023506s

\*\* Автор, с которым следует вести переписку.

тительный материал – надземная часть (стебли, листья, коробочки), собран на территории Саяно-Шушенского природного биосферного заповедника в при Енисейской части Хемчинского хребта в устье реки Колбак-Мыс в период цветения и плодоношения в июле 2013 года. Образцы были определены А.Е. Сонниковой. Гербарные образцы хранятся в гербариях заповедника «Саяно-Шушенский» и Центрального Сибирского ботанического сада СО РАН.

### Экспериментальная часть

Навеску 46.5 г измельченной воздушно-сухой надземной части растения (без коробочек) помещали в аппарат Сокслета, заливали *n*-гексаном и настаивали в течение 18 ч, затем на протяжении 5 ч осуществляли экстракцию по Сокслету. Полученный гексановый экстракт фильтровали при комнатной температуре, удаляли растворитель при пониженном давлении при 40 °С, следовые количества растворителя удаляли в вакууме масляного насоса. В итоге получили 1.21 г экстрактивных веществ. Сырье, не вынимая из аппарата Сокслета, сушили, подключив к сифонной трубке водоструйный насос.

Перечисленные выше операции проводили последовательно следующими растворителями в порядке увеличения их полярности: бензолом (0.224 г экстрактивных веществ), хлороформом (0.402 г экстрактивных веществ), метил-*трет*-бутиловым эфиром (0.160 г экстрактивных веществ), этанолом (2.94 г экстрактивных веществ) и метанолом (2.03 г экстрактивных веществ).

Для каждого экстракта были зафиксированы ИК-, ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  профили.

Для количественной оценки компонентов экстракта записывали ЯМР  $^1\text{H}$  профили со стандартом (1,3,5-тринитробензол; 1,2,4-триазол). Стандарт подбирали таким образом, чтобы его характерные сигналы не перекрывались с сигналами нашего образца. После записи профиля оценивали процентное содержание компонентов экстракта относительно интегральной интенсивности стандарта.

### Обсуждение результатов

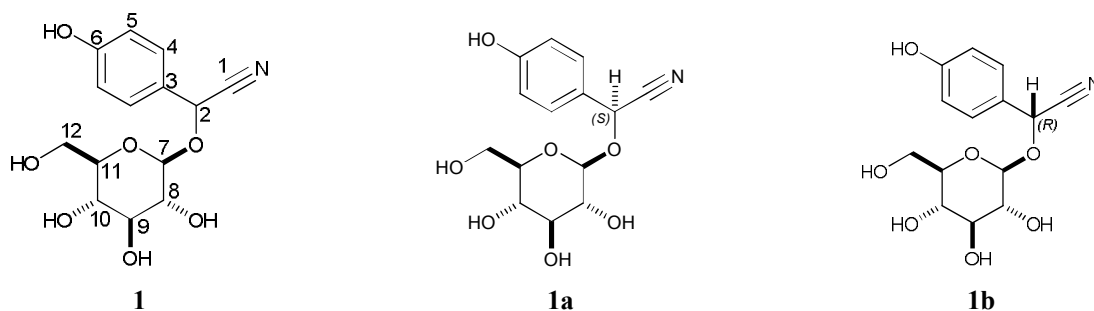
Сравнением профилей ЯМР  $^1\text{H}$  со спектрами аутентичных образцов (натуральные смеси триглицеридов ненасыщенных жирных кислот, воск, фитостерины, эфиры и гликозиды фитостеринов) и по данным ГЖХ-МС анализа в полученных экстрактах найдены следующие компоненты.

В гексановом экстракте – *n*-алканы ( $\text{C}_{14}$ ,  $\text{C}_{16}$ ,  $\text{C}_{18}$ ,  $\text{C}_{20}$ ,  $\text{C}_{22}$ ,  $\text{C}_{23}$ ,  $\text{C}_{24}$ ,  $\text{C}_{26}$ ,  $\text{C}_{27}$ ,  $\text{C}_{28}$ ,  $\text{C}_{29}$ ,  $\text{C}_{30}$ , основные компоненты  $\text{C}_{28}$  и  $\text{C}_{30}$  – по данным ГЖХ-МС), 1-алкены ( $\text{C}_{14}$ ,  $\text{C}_{16}$ ,  $\text{C}_{18}$ ,  $\text{C}_{20}$ ,  $\text{C}_{22}$ ,  $\text{C}_{24}$ ,  $\text{C}_{27}$ ,  $\text{C}_{29}$ , основные компоненты  $\text{C}_{18}$ ,  $\text{C}_{20}$ ,  $\text{C}_{22}$  – по данным ГЖХ-МС), альдегиды жирного ряда ( $\text{C}_{17}$ ,  $\text{C}_{27}$ ,  $\text{C}_{28}$ ,  $\text{C}_{29}$ , основные компоненты  $\text{C}_{28}$ ,  $\text{C}_{29}$  – по данным ГЖХ-МС), жирные кислоты ( $\text{C}_{14}$ ,  $\text{C}_{16}$ ,  $\text{C}_{18,2}$ , в соотношении 1 : 8 : 9 – по данным ГЖХ-МС), жирные спирты, воска, триглицериды ненасыщенных жирных кислот (линолевой и линоленовой), эфиры фитостеринов и жирных кислот (электронное приложение, рис. 1).

В бензольном и хлороформном экстрактах в основном – смесь фосфолипидов (по данным ЯМР  $^{31}\text{P}$  в сравнении с литературными данными [11, 12]).

В этанольном и метанольном экстрактах – в основном сахара и гликозиды.

Экстракт, полученный с использованием метил-*трет*-бутилового эфира, содержал один основной компонент (>50% по данным ЯМР), который по данным  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  и  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  двумерных корреляционных спектров ЯМР является  $\beta$ -D-глюкопиранозидом нитрила пара-гидроксиминдальной кислоты (**1**). Известны два природных диастереомерных гликозида такой структуры – дуррин (**1a**) и таксифиллин (**1b**) [13, 14]. В ИК-спектре метил-*трет*-бутилового экстракта обнаруживается полоса валентных колебаний связи  $\text{C}\equiv\text{N}$  ( $2256\text{ см}^{-1}$ ) и полосы колебаний ароматического цикла ( $1602$  и  $1614\text{ см}^{-1}$ ), положение которых совпадает с соответствующими полосами поглощения для такого гликозида [15] в КВг:  $2250$  ( $\text{C}\equiv\text{N}$ ),  $1600$  и  $1620$  (Ar).



(нумерация атомов дана для интерпретации спектров ЯМР)

В работе [16] дается полное отнесение сигналов обоих диастереомеров **1a** и **1b**. Сопоставление спектральных параметров соединений **1a** и **1b** с данными, полученными нами при анализе метил-*трет*-бутилового экстракта (табл.; электронное приложение, рис. 2 и 3), позволяет заключить, что основным цианогенным гликозидом в надземной части мака Куваева (*Papaver kuvajevii*) является таксифиллин.

Параметры спектров ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  для диастереомерных соединений **1a** и **1b** и экспериментальные значения для основного компонента метил-*трет*-бутилового экстракта надземной части мака Куваева (*Papaver kuvajevii*)

i	$\delta\text{C}^1$ , м.д.			$\delta\text{H}^1$ , м.д.		
	(1a)	(1b)	срх.	(1a)	(1b)	срх.
1	118.77	119.70	119.68	–	–	–
2	68.30	68.06	67.91	5.897 s	5.778 s	5.786 s
3	125.85	125.20	125.10	–	–	–
4	130.74	130.86	130.92	7.391 m	7.385 m	7.385 m
5	116.52	116.79	116.77	6.817 m	6.836 m	6.835 m
6	160.03	160.34	160.37	–	–	–
7	101.87	101.16	100.96	4.666 d (7.6)	4.165 pseudo d, 7.8	4.163 dm (7.7)
8	74.75	74.75	74.68	3.226 dd (7.6, 9.2)	3.270 m	3.265 m
9	78.10	77.94	77.84	3.408 t (9.2)	3.244 m	3.243 m
10	71.55	71.55	71.52	3.292 dd	3.233 m	3.236 m
11	78.30	78.30	78.30	3.177 ddd (2.2, 6.3, 9.7)	3.179 ddd (2.3, 6.1, 9.7)	3.176 m
12	62.82	62.82	62.81	3.897 dd (2.2, 12.0)	3.897 dd (2.3, 12.0)	3.896 dd (2.0, 12.2)
				3.708 dd (6.3, 12.0)	3.708 dd (6.1, 12.0)	3.670 dd (6.3, 12.2)

Примечание. Спектры ЯМР записаны при 27 °С на спектрометре Bruker DRX-500 (500.13 МГц для  $^1\text{H}$ , 125.75 МГц для  $^{13}\text{C}$ ) для раствора в метаноле- $d_4$ , в качестве внутреннего стандарта использовали сигналы растворителя:  $\delta\text{H}$  3.30 м. д. и  $\delta\text{C}$  49.0 м. д.; параметры спектров соединений **1a** и **1b** взяты из работы [16].

### Выводы

Для определения содержания таксифиллина использовали метод количественного ядерного магнитного резонанса (qNMR) [17–19] и 1*H*-1,2,4-триазол в качестве внутреннего стандарта при регистрации спектров ЯМР  $^1\text{H}$ . Содержание таксифиллина в хлороформном экстракте составило 2.1% (по массе), в метил-*трет*-бутиловом экстракте – 56%, в этанольном – 7.7% и в метанольном – 0.10%. Таким образом, содержание таксифиллина в воздушно-сухой надземной части мака Куваева составило 0.70%.

### Список литературы

1. World Health Organization *WHO Library Cataloguing-in-Publication Data* – s.l.: Quality control methods for herbal materials, 1998.
2. Giri L., Andola H.C., Kant Purohit V., Rawat M.S.M., Rawal R.S., Bhatt I.D. Chromatographic and spectral fingerprinting standardization of traditional medicines: An overview as modern tools // *Research Journal of Phytochemistry*. 2010. Vol. 4. N4. Pp. 234–241.
3. Tistaert C., Dejaegher B., Heyden Y.V. Chromatographic separation techniques and data handling methods for herbal fingerprints: A review // *Analytica Chimica Acta*. 2011. Vol. 690. Pp. 148–161.
4. Wu H., Guo J., Chen S., Liu X., Zhou Y., Zhang X., Xu X. Recent developments in qualitative and quantitative analysis of phytochemical constituents and their metabolites using liquid chromatography–mass spectrometry // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2013. Vol. 72. Pp. 267–291.
5. Krishnan P., Kruger N.J., Ratcliffe R.G. Metabolite fingerprinting and profiling in plants using NMR // *Journal of Experimental Botany*. 2005. Vol. 56. Pp. 255–265.
6. Colquhoun I.J. Use of NMR for metabolic profiling in plant systems // *Journal of Pesticide Science*. 2007. Vol. 32. Pp. 200–212.
7. Kim H.K., Choi Y.H., Verpoorte R. NMR-based metabolomic analysis of plants // *Nature protocols*. 2010. Vol. 5. Pp. 536–549.
8. Eisenreich W., Bacher A. Advances of high-resolution NMR techniques in the structural and metabolic analysis of plant biochemistry // *Phytochemistry*. 2007. Vol. 68. Pp. 2799–2815.
9. Shaulo D., Sonnikova A. A new species of the genus *Papaver* L. (*Papaveraceae*) from the Western Sayan // *Turczaninowia*. 2003. Vol. 6. N4. Pp. 5–6.
10. Korotkikh M.O., Pankrushina N.A., Sal'nikova O.I., Sonnikova A.E. Alkaloids from the new species *Papaver kuvajevii* // *Chemistry of Natural Compounds*. 2015. Vol. 51. Pp. 803–804.

11. Sotirhos N., Herslof B., Kenne L. Quantitative analysis of phospholipids by  $^{31}\text{P}$ -NMR // *Journal of Lipid Research*. 1986. Vol. 27. Pp. 386–392.
12. Hatzakis E., Koidis A., Boskou D., Dais P. Determination of Phospholipids in Olive Oil by  $^{31}\text{P}$  NMR Spectroscopy // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. Vol. 56. Pp. 6232–6240.
13. Miller R.E., Tuck K.L. Reports on the distribution of aromatic cyanogenic glycosides in Australian tropical rainforest tree species of the *Lauraceae* and *Sapindaceae* // *Phytochemistry*. 2013. Vol. 92. Pp. 146–152.
14. Chang J., Zhang Y. Catalytic degradation of amygdalin by extracellular enzymes from *Aspergillus niger* // *Process Biochemistry*. 2012. Vol. 47. Pp. 195–200.
15. Mao C.-H., Blocher J., Anderson L., Smith D. Cyanogenesis in *Sorghum vulgare* – I.: An improved method for the isolation of dhurrin; physical properties of dhurrin // *Phytochemistry*. 1965. Vol. 4. Pp. 297–303.
16. Seigler D.S., Pauli G.F., Fröhlich R., Wegelius E., Nahrstedt A., Glander K.E., Ebinger J.E. Cyanogenic glycosides and menisdaurin from *Guazuma ulmifolia*, *Ostrya virginiana*, *Tiquilia plicata*, and *Tiquilia canescens* // *Phytochemistry*. 2005. Vol. 66. Pp. 1567–1580.
17. Pauli G.F. qNMR – a versatile concept for the validation of natural product reference compounds // *Phytochemical Analysis*. 2001. Vol. 12. Pp. 28–42.
18. Wishart D.S. Quantitative metabolomics using NMR TrAC // *Trends in Analytical Chemistry*. 2008. Vol. 27. Pp. 228–237.
19. Chauthe S.K., Sharma R.J., Aqil F., Gupta R.C., Singh I.P. Quantitative NMR: An Applicable Method for Quantitative Analysis of Medicinal Plant Extracts and Herbal Products // *Phytochemical Analysis*. 2012. Vol. 23. Pp. 689–696.

Поступило в редакцию 13 декабря 2017 г.

После переработки 26 января 2018 г.

**Для цитирования:** Коротких М.О., Ткачев А.В. Химическое профилирование *Papaver kuvajevii*: определение содержания таксифиллина – основного цианогенного гликозида Химия растительного сырья. 2018. №2. С. 71–75. DOI: 10.14258/jcrpm.2018023506

Korotkikh M.O.\* , Tkachev A.V. CHEMICAL PROFILING OF *PAPAVER KUVAJEVII*: DETERMINATION OF THE MAIN CYANOGENIC GLYCOSIDE – TAXIFILLIN

Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, N.N. Vorozhtsov SB RAS, pr. Acad. Lavrentieva, 9, Novosibirsk, 630090 (Russia), e-mail: korotkikh@nioch.nsc.ru

The complex of plant metabolites as a set of certain substances can be characterized by chemical and physicochemical methods of analysis. A chemical characteristic involves the identification of a set of individual substances - chemical markers unique to a selected plant object, and the entire visible set of components as a characteristic profile – a "chemical fingerprint".

The object of the study is the poppy of Kuvaev (*Papaver kuvajevii*). A new kind of poppy, described in 2003. Endemic. Perennial. It grows in the steppe belt on the slopes of the mountains, rocks, screes, pasture steppes. Blossoms in May – August. Seed multiplication June – September.

In this paper, a scheme of extraction procedures for the spectroscopic profiling of the Kuvaev poppy has been developed. The crushed air-dry aerial part of the plant (without capsules) was extracted in the Soxhlet apparatus sequentially with solvents (in order of increasing their polarity). IR, NMR  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  profiles were recorded for each extract. The content of taxifillin in the sample is determined by quantitative NMR analysis (q-NMR).

**Keywords:** spectroscopic profiling, extraction, *Papaver kuvajevii*, taxifillin, qNMR.

## References

1. World Health Organization WHO Library Cataloguing-in-Publication Data – s.l.: Quality control methods for herbal materials, 1998.
2. Giri L., Andola H.C., Kant Purohit V., Rawat M.S.M., Rawal R.S., Bhatt I.D. *Research Journal of Phytochemistry*, 2010, vol. 4, no. 4, pp. 234–241.
3. Tistaert C., Dejaegher B., Heyden Y.V. *Analytica Chimica Acta*, 2011, vol. 690, pp. 148–161.
4. Wu H., Guo J., Chen S., Liu X., Zhou Y., Zhang X., Xu X. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013, vol. 72, pp. 267–291.
5. Krishnan P., Kruger N.J., Ratcliffe R.G. *Journal of Experimental Botany*, 2005, vol. 56, pp. 255–265.
6. Colquhoun I.J. *Journal of Pesticide Science*, 2007, vol. 32, pp. 200–212.
7. Kim H.K., Choi Y.H., Verpoorte R. *Nature protocols*, 2010, vol. 5, pp. 536–549.
8. Eisenreich W., Bacher A. *Phytochemistry*, 2007, vol. 68, pp. 2799–2815.
9. Shaulo D., Sonnikova A. *Turczaninowia*, 2003, vol. 6, no. 4, pp. 5–6.
10. Korotkikh M.O., Pankrushina N.A., Sal'nikova O.I., Sonnikova A.E. *Chemistry of Natural Compounds*, 2015, vol. 51, pp. 803–804.
11. Sotirhos N., Herslof B., Kenne L. *Journal of Lipid Research*, 1986, vol. 27, pp. 386–392.
12. Hatzakis E., Koidis A., Boskou D., Dais P. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, vol. 56, pp. 6232–6240.
13. Miller R.E., Tuck K.L. *Phytochemistry*, 2013, vol. 92, pp. 146–152.
14. Chang J., Zhang Y. *Process Biochemistry*, 2012, vol. 47, pp. 195–200.
15. Mao C.-H., Blocher J., Anderson L., Smith D. *Phytochemistry*, 1965, vol. 4, pp. 297–303.
16. Seigler D.S., Pauli G.F., Fröhlich R., Wegelius E., Nahrstedt A., Glander K.E., Ebinger J.E. *Phytochemistry*, 2005, vol. 66, pp. 1567–1580.
17. Pauli G.F. *Phytochemical Analysis*, 2001, vol. 12, pp. 28–42.
18. Wishart D.S. *Trends in Analytical Chemistry*, 2008, vol. 27, pp. 228–237.
19. Chauthé S.K., Sharma R.J., Aqil F., Gupta R.C., Singh I.P. *Phytochemical Analysis*, 2012, vol. 23, pp. 689–696.

Received December 13, 2017

Revised January 26, 2018

**For citing:** Korotkikh M.O., Tkachev A.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2018, no. 2, pp. 71–75. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2018023506

\* Corresponding author.

