

УДК 543.544.5.068.7/543.054.2

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СХИЗАНДРОЛОВ А И В В ЭКСТРАКТАХ ИЗ СЕМЯН *SCHISANDRA CHINENSIS* МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С ТАНДЕМНЫМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

© А.Н. Ставрианиди*, И.А. Родин, А.В. Браун, Е.А. Стеколыщикова, И.А. Ананьева, О.А. Шпигун

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1/3, Москва, 119991 (Россия), e-mail: stavrianidi.andrey@gmail.com

С использованием метода жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии разработан способ одновременного определения схизандролов А и В в экстрактах из растительного сырья (пределы обнаружения составили 8 и 4 нг/мл при определении схизандролов А и В соответственно). В варианте электрораспылительной ионизации были выбраны подходящие условия масс-спектрометрического детектирования этих соединений в режиме регистрации выделенных ионных переходов для положительных ионов. Для анализа растительных экстрактов использовали обращенно-фазовый вариант хроматографии в режиме градиентного элюирования на сорбенте с привитыми группами С18. Опробование предложенного подхода осуществляли при анализе водной вытяжки и водно-спиртового экстракта из семян *Schisandra chinensis*. Показано, что при приготовлении традиционного средства – водной вытяжки – извлечение аналитов в 9 раз хуже по сравнению с экстракцией водно-спиртовой смесью.

Разработанный способ обладает большей селективностью в сравнении с описанными в литературе подходами, в которых для детектирования схизандролов А и В и схожих компонентов применяют УФ-детектирование, а следовательно, позволяет проводить определение данных соединений даже в случае их неполного хроматографического разделения с другими компонентами пробы.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия, электрораспылительная ионизация, экстракция, растительное сырье, *Schisandra chinensis*, схизандролы А и В.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (РФФИ) (№ гранта: мол_a 14-03-31059; a_14-03-00125).

Введение

Лимонник китайский (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.) – вид цветковых растений рода Лимонник (*Schisandra*) семейства Лимонниковые (*Schisandraceae*). В состав семян *S. chinensis* входит большое число активных компонентов – лигнанов, входящих в состав современных лекарственных средств и пищевых

добавок [1]. Препараты на основе *S. chinensis* применяют в китайской народной медицине, в качестве антиспазматического тоника для легких и почек [2], также они способствуют выработке жидкости в организме, тонизируют почки и вызывают седативный эффект [1]. Кроме того, на протяжении нескольких сотен лет препараты на основе этого растения используют для лечения бессонницы [3]. Основным биоактивным компонентом *S. chinensis* является схизандрол А (рис. 1), а схизандрол В, наряду со схизандринами А, В и С, содержится приблизительно на том же уровне концентрации в спиртовых экстрактах [4].

Ставрианиди Андрей Николаевич – кандидат химических наук, младший научный сотрудник, e-mail: stavrianidi.andrey@gmail.com

Родин Игорь Александрович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник, e-mail: rodin@analyt.chem.msu.ru

Браун Аркадий Владимирович – кандидат химических наук, младший научный сотрудник, e-mail: avbraun@yandex.ru

Стеколыщикова Елена Алексеевна – аспирант, e-mail: stekolschikova_elen@mail.ru

Ананьева Ирина Алексеевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник, e-mail: irishan@mail.ru

Шпигун Олег Алексеевич – член-корр. РАН, доктор химических наук, профессор, e-mail: Shpigun@analyt.msu.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

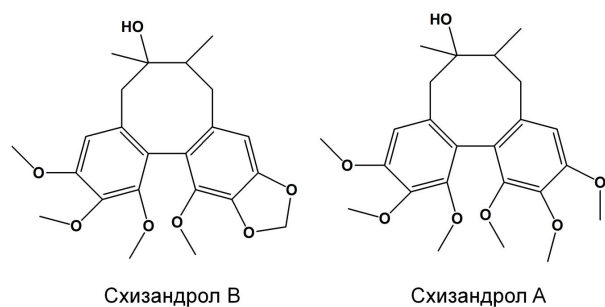


Рис. 1. Структуры схизандролов А и В

и всесторонней оценки их качества, поэтому постоянно совершенствуют и предлагают новые методики анализа таких препаратов и исходного сырья [1]. Большинство описанных в литературе способов анализа этих объектов основаны на разделении основных компонентов методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием [1, 6, 7], кроме того, применяют мицеллярную электрокинетическую хроматографию [8]. Эти методы не дают дополнительной структурной информации и не позволяют провести идентификацию неизвестных компонентов, что ограничивает их сферу применения. Кроме того, эти методы позволяют оценивать качество продукта только в зависимости от содержания нескольких биологически активных компонентов, требуют длительного времени и расхода органических растворителей при анализе и характеризуются низкой чувствительностью и точностью. Таким образом, эти способы не подходят для комплексной оценки качества препаратов на основе *Schisandra chinensis*. Масс-спектрометрическое детектирование активно используют для определения лигнанов как в растительных экстрактах, так и в биологических жидкостях. Так, в работах [9, 10] в плазме крови крыс определяли несколько биоактивных компонентов *S. chinensis* и препарата *Sheng-Mai-San* методами ВЭЖХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС с электрораспылительной ионизацией с использованием внутреннего стандарта – бифендата. Для извлечения исследуемых соединений из плазмы использовали жидкость-жидкостную экстракцию метанолом и эфиром с пяти- и десятикратным разбавлением плазмы соответственно, с последующим упариванием и перерастворением в 100 мкл элюента. Наблюдаемые степени извлечения были на уровне 90%. В работе [10] элюирование проводили в градиентном режиме, а детектирование – в режиме регистрации выбранных ионов с m/z 455,2 для схизандрола А $[M+Na]^+$ и 441,2 для внутреннего стандарта бифендата $[M+Na]^+$. В работе [9] детектирование проводили по ионным переходам m/z 433,4→384,1 для схизандрола А, $[M-H_2O+H]^+$ 399,1→368,1 для схизандрола В и 419,3→387,0 для внутреннего стандарта (бифендата), при этом диапазоны линейности определяемых содержаний схизандролов А и В были 10–2500 и 1,2–300 нг/мл соответственно, а площади пиков на хроматограммах одних и тех же образцов в течение нескольких дней различались менее чем на 10%. Для быстрого скрининга 15 лигнанов в 15 препаратах на основе *Schisandrae chinensis* в целях контроля качества применяли метод времяпролетной масс-спектрометрии в сочетании с ультра-ВЭЖХ [4], в качестве внутреннего стандарта использовали нимодипин. После оптимизации параметров регистрации m/z сигналов выбранных ионов с точностью до 3 миллионных долей пределы обнаружения оказались в диапазоне от 0,1 до 1 нг/мл. Разработанный способ характеризуется хорошей внутрилабораторной воспроизводимостью и стабильностью – относительное стандартное отклонение в обоих случаях для всех определяемых веществ было меньше 4%. Также в литературе [11] есть упоминания об успешном применении метода прямого масс-спектрометрического анализа в реальном времени в сочетании с разделением на подложке для ТСХ при определении лигнанов в растительных экстрактах. Таким образом, применение метода ВЭЖХ-МС/МС для одновременного определения схизандролов А и В в растительных экстрактах из семян и плодов *S. chinensis* представляется перспективным, так как не требует сложной пробоподготовки и отличается хорошими показателями чувствительности и воспроизводимости, а также позволит проводить комплексную и надежную оценку качества препаратов на основе этого растительного сырья.

Экспериментальная часть

Растворы и реагенты. В работе использовали следующие реактивы: схизандролы А и В (>98%, Phytolab, Германия), ацетонитрил (для градиентной хроматографии Panreac, Испания), этанол (для градиентной хроматографии Panreac, Испания), муравьиная кислота (Sigma Aldrich, Германия).

Для выделения схизандролов А и В из растений обычно применяют экстракцию и противоточную хроматографию, с помощью которой можно выделить данные вещества в чистом виде. Так, используя двухфазную систему растворителей, содержащую *n*-гексан – этилацетат – метанол – воду в соотношении 10 : 9 : 9 : 10 (по объему), авторы работы [5] выделили схизандролы А и В с чистотой 99,5 и 99,1% соответственно. Используемые в настоящее время методы оценки содержания лигнанов *S. chinensis* в лекарственных средствах, например Wuweizi [2], не являются достаточными для точной

Оборудование. В работе использовали систему ВЭЖХ-МС/МС, состоящую из tandemного масс-спектрометра QTrap 3200 (AB Sciex, Канада), оснащенного двумя источниками ионизации: источником химической ионизации при атмосферном давлении и источником электрораспылительной ионизации, и системы ВЭЖХ ULTIMATE 3000 (Dionex, США). В качестве неподвижной фазы при определении схизандролов А и В при их совместном присутствии в пробах использовали колонку с обращенно-фазовым сорбентом Acclaim RSLC, длиной 150 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, размером зерна сорбента 2,2 мкм (Thermo, США). Экспериментальные данные регистрировали и обрабатывали с помощью персонального компьютера и программных пакетов «Analyst» (AB Sciex, Канада).

Приготовление стандартных растворов и построение градуировочных зависимостей. Навески схизандролов А и В массой 1 мг растворяли в 1 мл воды. Полученные растворы использовали для приготовления серий градуировочных растворов с концентрациями 10, 20, 100, 200, 500, 5000 нг/мл. Полученные для водных растворов данные приведены в таблице 1. Пределы обнаружения вычисляли по формуле:

$$C_{min} = \frac{10 \times C}{3},$$

где C – наименьшая концентрация линейного диапазона определяемых содержаний.

Анализ растительных экстрактов. Отбирали 10 г измельченных семян *S. chinensis* (ООО «Беловодье», Россия) и последовательно добавляли 40, 30 и 30 мл воды, доводили температуру до кипения и оставляли охлаждаться и перемешиваться на шейкере в течение 1 ч. Объединив полученные водные вытяжки, упаривали их на песчаной бане до получения концентрированного (0,354 г/мл) экстракта. После интенсивного перемешивания отбирали навески около 100 мг полученной сконцентрированной вытяжки наравне с навесками 100 мг измельченных семян. Использовали по три навески каждого образца. К навескам добавляли 10 мл смеси этанол – вода (7 : 3) в пробирке объемом 15 мл, тщательно перемешивая. Далее проводили экстракцию в ультразвуковом поле при 30 °С в течение 15 мин (при этом навеска концентрированного экстракта практически полностью растворилась). После центрифугирования 10 мин при 16000 об/мин отбирали 5 мл надосадочной жидкости и пропускали через 0,45 мкм фильтр CHROMAFIL Xtra (Macherey-Nagel, Германия), отбрасывали первые 2–3 мл экстракта и отбирали 1 мл полученного фильтрата в колбу на 50 мл и доводили объем до метки элюентом, постепенно перемешивая. Полученные растворы исследовали хромато-масс-спектрометрически.

Условия хромато-масс-спектрометрического определения. Определение проводили с использованием источника ионов для электрораспылительной ионизации в режиме регистрации выбранных реакций для отрицательно заряженных ионов. Температура источника ионизации составляла 350 °С, напряжение на капилляре – 5,5 кВ; давление газа-завесы – 15 PSI; давление газа-распылителя – 40 PSI. Разделение пробы проводили в изократическом режиме подачи элюента, скорость потока составляла 0,4 мл/мин. Подвижная фаза состояла из двух компонентов: воды с добавкой 0,5% муравьиной кислоты – элюент А и ацетонитрила – элюент Б. Использовали две программы градиентного элюирования. В сокращенной программе элюирования вначале до 1 мин анализа концентрация элюента Б составляла 15%; до 11 мин концентрация равномерно увеличивалась до 80% Б и оставалась постоянной в течение 1 мин; в конце анализа в течение 4 мин проводили уравнивание системы в начальных условиях (15% элюента Б). Время анализа в режиме сканирования составило 22 мин, при этом после увеличения концентрации элюента Б с 15 до 90% (в промежутке от 3 до 12 мин) состав подвижной фазы оставался постоянным до 17 мин анализа. Температура термостата колонки – 25 °С. Объем вводимой пробы составлял 0,020 мл. Метрологические характеристики использованного подхода приведены в таблице 1.

Таблица 1. Метрологические характеристики предложенного подхода определения схизандролов А и В

Вещество	Диапазон линейности, нг/мл	Уравнение градуировочной зависимости	Коэффициент корреляции, r^2	Предел обнаружения в водном растворе, мкг/мл
Схизандрол А	20–2000	$y = 300x + 34000$	0,9991	0,006
Схизандрол В	10–2000	$y = 510x + 33000$	0,9982	0,003

Обсуждение результатов

Помимо схизандролов А и В (рис. 1), в состав экстрактов из лимонника китайского входит большое число других важных компонентов близкой структуры, например схизандрины А, В и С [1]. УФ-спектры этих компонентов похожи, поэтому для определения состава экстрактов методом ВЭЖХ-УФ необходимо

добиться полного разделения всех пиков на хроматограмме. При использовании одновременно диодноматричного детектора и МС-детектора в режиме сканирования были получены хроматограммы экстрактов из измельченных семян лимонника китайского (рис. 2) в варианте обращенно-фазовой хроматографии с применением сорбента Acclaim RSLC C18. В течение анализа продолжительностью 22 мин отмечены отдельные пики нескольких основных компонентов, однако полного хроматографического разделения добиться не удалось. Пики тиглоилгомисина *H*, англоилгомисина *H*, гомисинов *G*, *B*, *E* и *N*, а также схизандрин *A*, *B* и *C* были идентифицированы на основании совпадения m/z сигналов $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$ и $[M+K]^+$ ионов в масс-спектрах этих пиков с рассчитанными моноизотопными массами этих ионов для данных соединений. Таким образом, очевидным решением проблемы является переход к более селективному способу детектирования – регистрации сигналов отдельных ионов или ионных переходов, характерных для каждого компонента.

На стадии проведения оптимизации условий тандемного масс-спектрометрического детектирования проводили выбор оптимальных пар ионных переходов для МС-детектирования схизандролов *A* и *B* и подбирали параметры, отвечающие за настройки работы квадруполей в масс-анализаторе, а именно потенциал декластеризации, входной потенциал на нулевом квадруполе и энергии соударений – необходимые для повышения интенсивности аналитического сигнала. Для этого в режиме прямого ввода с использованием шприцевого насоса анализировали водно-ацетонитрильные растворы схизандролов *A* и *B* с концентрациями 5 мкг/мл. В полученных масс-спектрах растворов определяемых веществ присутствовали сигналы, соответствующие протонированным молекулам схизандролов *A* и *B* с m/z 433 и 417 соответственно (режим регистрации положительно заряженных ионов). Образование этих ионов сопровождается присоединением других положительно заряженных атомов — Na или K. Однако ионы аддуктов со щелочными металлами практически не способны реагировать в газовой фазе в ячейке соударений с образованием фрагментных ионов, что приводит к низким интенсивностям сигналов в спектрах, поэтому критерием выбора оптимальных значений потенциала декластеризации и входного потенциала на нулевом квадруполе масс-спектрометрического детектора явилась максимальная интенсивность молекулярного иона в масс-спектре.

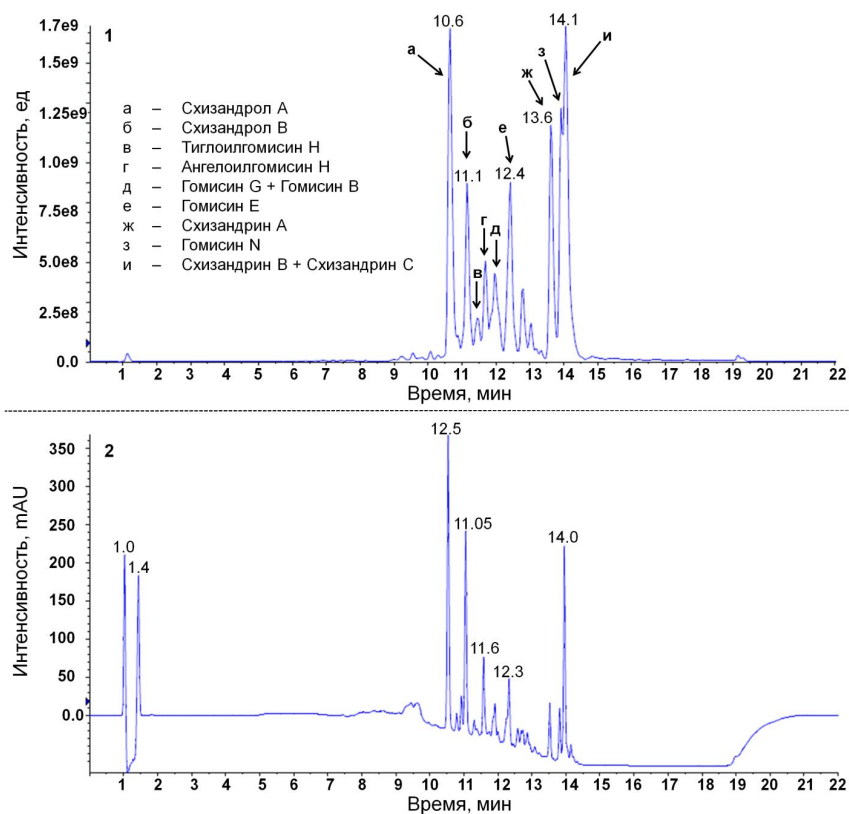


Рис. 2. Хроматограммы экстракта из измельченных семян *Schisandra chinensis*, полученные в режимах сканирования по полному ионному току в диапазоне m/z 100–1700 Да (1) и УФ-детектирования при длине волны поглощения 241 нм (2)

Следующим этапом оптимизации масс-спектрометрического детектирования схизандролов А и В является выбор подходящих ионных переходов. Для этого проводили исследование влияния энергии фрагментации в камере соударений масс-спектрометра на характер спектра дочерних ионов, образующихся при распаде протонированных молекул аналитов (рис. 3). После выбора двух характеристичных пар ион-предшественник – фрагментный ион для каждого из схизандролов А и В, используя встроенные в программное обеспечение масс-анализатора функции варьирования потенциалов с шагом 1 В, устанавливали значения потенциала декластеризации, входного потенциала на нулевом квадруполе и энергий соударений, при которых наблюдается наибольший по интенсивности отклик.

Таким образом, для получения максимального аналитического сигнала для определяемых веществ в выбранном варианте источника ионизации в режиме регистрации положительных ионов необходимо использовать параметры работы масс-спектрометра, представленные в таблице 2.

Для перевода молекул схизандролов А и В в протонированную форму в состав подвижной фазы входила деионизированная вода с добавкой 0,5% муравьиной кислоты, что позволило добиться приемлемых времен удерживания и интенсивностей пиков определяемых веществ (рис. 4). Для успешного определения аналитов была применена сокращенная программа градиентного элюирования, так как разработанный способ селективного детектирования в режиме регистрации выбранных ионных переходов можно использовать даже при отсутствии полного хроматографического разделения пиков схизандролов и других компонентов экстракта. Параметры хроматографического разделения схизандролов А и В приведены в таблице 3 (при расчетах использовали величину мертвого времени, равного 1,1 мин).

Оценку характеристик разработанного подхода определения схизандролов А и В проводили при анализе экстрактов из растения *Schisandra chinensis*.

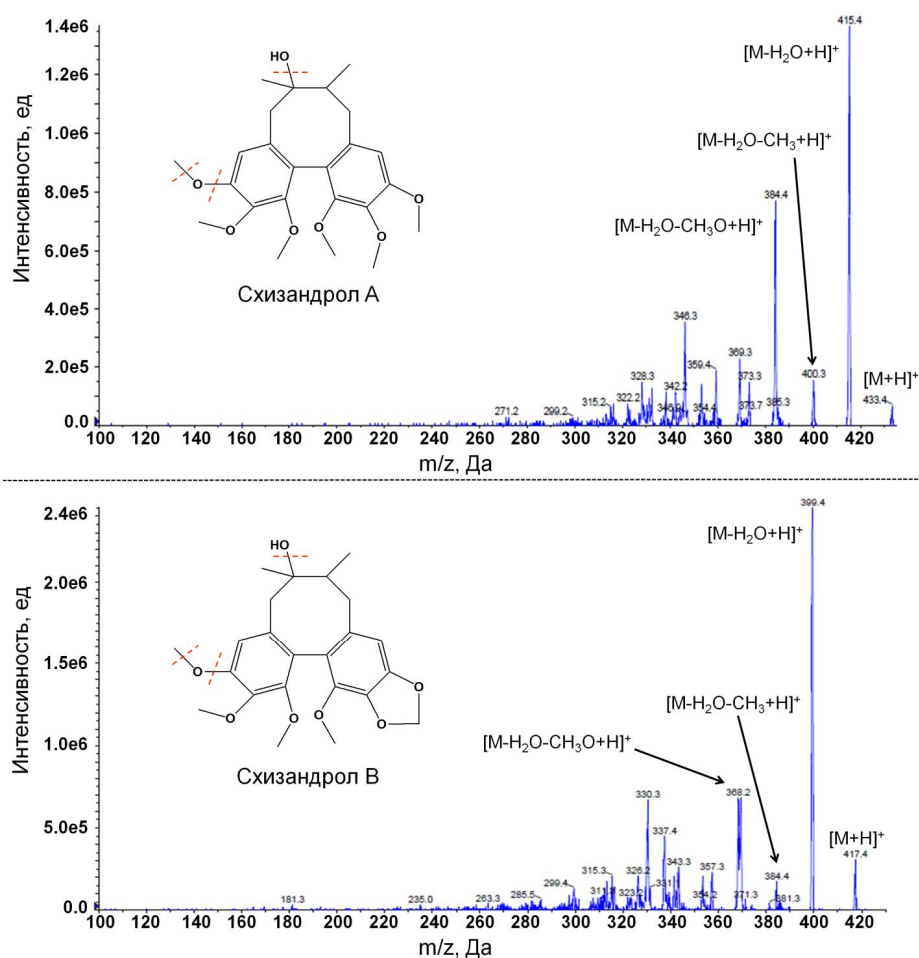


Рис. 3. Спектры дочерних ионов депротонированных молекул схизандролов А и В. Режим электрораспылительной ионизации в варианте регистрации положительных ионов

Таблица 2. Выбранные параметры масс-спектрометрического детектирования определяемых веществ с использованием электрораспылительной ионизации в режиме регистрации положительных ионов

Параметры	Оптимизированные значения	
	схизандрол А	схизандрол В
Потенциал декластеризации	31 В	31 В
Входной потенциал на нулевом квадруполе	8 В	8 В
Энергия соударений	38 В	12 В
Выбранный ионный переход №1	433 → 415	417 → 399
Выбранный ионный переход №2	433 → 384	417 → 368
Полярность регистрируемых ионов	положительные	положительные

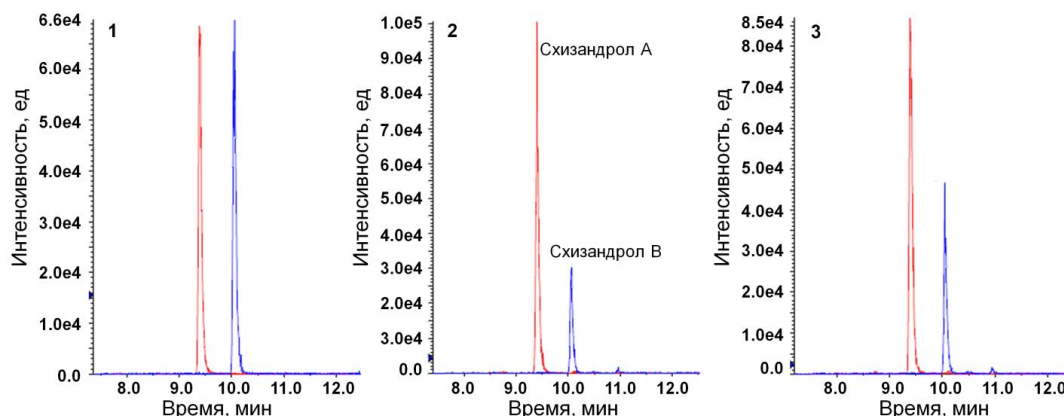


Рис. 4. Хроматограммы стандартного раствора с содержанием схизандролов А и В 0,9 и 0,5 мкг/мл соответственно (1); экстракта из сконцентрированной водной вытяжки (2) и экстракта из измельченных семян *S. chinensis* (3), полученные в режимах регистрации выбранных ионных переходов 433 → 415 для схизандролов А и 417 → 399 для схизандролов В

Таблица 3. Параметры хроматографического разделения схизандролов А и В на колонке Acclaim RSLC C18 (150×2,1 мм, размер зерна сорбента 2,2 мкм) при скорости потока 0,4 мл/мин

Вещества	Время удерживания, мин	Коэффициент ёмкости	N, ТТ
Схизандрол А	9,4	7,5	12000
Схизандрол В	10,1	8,2	32000

Пределы обнаружения разработанного способа, определяемые как минимальные содержания веществ в пробе, которые можно достоверно регистрировать (отношение сигнал/шум для хроматографического пика не меньше 3), находили по формуле:

$$C_{\min} = \frac{3 \cdot \Delta x \cdot C}{h},$$

где Δx – уровень шума нулевого сигнала, C – концентрация схизандролов, h – высота пика на хроматограмме.

Пределы обнаружения схизандролов А и В в образцах растительных экстрактов составили 8 и 4 нг/мл соответственно. Для опробования разработанного способа определения схизандролов А и В были проанализированы образцы экстрактов. На рисунке 4 приведены хроматограммы образцов экстрактов из сконцентрированной водной вытяжки, которая часто применяется в традиционной медицине [10], и измельченных семян растения *S. chinensis* смесью этанол – вода (7 : 3). Показано, что экстрагирование водно-спиртовой смесью лучше подходит для извлечения биоактивных компонентов из данного растительного материала. Расчет содержаний исследуемых компонентов проводили согласно построенным уравнениям градуировочных зависимостей, доверительные интервалы указаны для доверительной вероятности (P), равной 0,95 (табл. 4). Для приготовления сконцентрированной водной вытяжки (0,354 г/мл) брали 10 г исходного порошка измельченных семян. Такой способ обработки позволил добиться в 8,5 и 9,8 раза худшего извлечения схизандролов А и В соответственно в сравнении с экстрагированием этих веществ из измельченных семян *S. chinensis* водно-спиртовой смесью.

Таблица 4. Содержание схизандролов А и В в экстрактах ($N=3$, $P=0,95$)

Образец	Концентрация, нг/мл		Содержание в образце, мг/г	
	схизандрол А	схизандрол В	схизандрол А	схизандрол В
Экстракт из вытяжки	950±100	150±9	4,8±0,5	0,75±0,05
Экстракт из семян	1100±80	200±7	5,5±0,4	1,0±0,04

Выводы

Разработан способ быстрого одновременного ВЭЖХ-МС/МС определения схизандролов А и В в экстрактах из растительного сырья. Пределы обнаружения составили 8 нг/мл при определении схизандролов А и 4 нг/мл при определении схизандролов В. Преимуществами указанного способа анализа являются его высокая достоверность и правильность, что позволяет использовать предложенный способ в качестве референтного. Установлено, что схизандролов А и В приблизительно в 9 раз более эффективно извлекаются водно-спиртовой смесью, чем водой при приготовлении традиционного средства – водной вытяжки из *S. chinensis*.

Список литературы

1. Liu H., Lai H., Jia X., Liu J., Zhang Z., Qi Y., Zhang J., Song J., Wu C., Zhang B., Xiao P. Comprehensive chemical analysis of Schisandra chinensis by HPLC–DAD–MS combined with chemometrics // *Phytomedicine*. 2013. Vol. 20, N12. Pp. 1135–1143.
2. Chinese Pharmacopoeia Commission, 2010. Pharmacopoeia of the People's Republic of China Version. Chin. Med. Sci. Press, Beijing. 2010.
3. Song Yu C., Fei L. Clinical Guide to Chinese Herbs and Formulae. Churchill Livingstone, London, 1993. 304 p.
4. Zhang W.D., Wang Q., Wang Y., Wang X.J., Pu J.X., Gu Y., Wang R. Application of ultrahigh-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry for analysis of lignans and quality control of Fructus Schisandrae chinensis // *Journal of Separation Science*. 2012. Vol. 35, N17. Pp. 2203–2209.
5. Peng J., Fan G., Qu L., Zhou X., Wu Y. Application of preparative high-speed counter-current chromatography for isolation and separation of schizandrin and gomisin A from Schisandra chinensis // *Journal of Chromatography A*. 2005. Vol. 1082, N2. Pp. 203–207.
6. Li L.Y., Liu Y., Li W. Determination of schisantherin A and schizandrin A in Fructus schisandrae sphenantherae softcapsules by HPLC // *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*. 2011. Vol. 2. Pp. 158–160.
7. Wei H., Sun L.N., Tai Z.G., Gao S.H., Xu W., Chen W.S. A simple and sensitive HPLC method for the simultaneous determination of eight bioactive components and fingerprint analysis of Schisandra sphenanthera // *Analytica Chimica Acta*. 2010. Vol. 662, N1. Pp. 97–104.
8. Yuan G., Liu Y., Li T., Wang Y., Sheng Y., Guan M. Simultaneous and Rapid Determination of Main Lignans in Different Parts of Schisandra Sphenanthera by Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography // *Molecules* 2011. Vol. 16, N5. Pp. 3713–3722.
9. Wei B., Li Q., Su D., Fan R., Zhao L., Geng L., He B., Chen X., Jia Y., Bi K. Development of a UFLC–MS/MS method for simultaneous determination of six lignans of Schisandra chinensis (Turcz.) Baill. in rat plasma and its application to a comparative pharmacokinetic study in normal and insomnic rats // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2013. Vol. 77. Pp. 120–127.
10. Xu M., Wang G., Xie H., Huang Q., Wang W., Jia Y. Pharmacokinetic comparisons of schizandrin after oral administration of schizandrin monomer, Fructus Schisandrae aqueous extract and Sheng-Mai-San to rats // *Journal of Ethnopharmacology*. 2008. Vol. 115, N3. Pp. 483–488.
11. Kim H.J., Oh M.S., Hong J., Jang Y.P. Quantitative analysis of major dibenzocyclooctane lignans in Schisandrae fructus by online TLC–DART–MS // *Phytochemical Analysis*. 2011. Vol. 22, N3. Pp. 258–262.

Поступило в редакцию 28 мая 2015 г.

После переработки 10 июня 2015 г.

*Stavriani A.N.**, *Rodin I.A.*, *Braun A.V.*, *Stekolshchikova E.A.*, *Ananieva I.A.*, *Shpigun O.A.* DEVELOPMENT OF THE APPROACH FOR DETERMINATION OF SCHIZANDROL A AND B IN THE EXTRACTS FROM SEEDS OF SCHISANDRA CHINENSIS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH TANDEM MASS-SPECTROMETRIC DETECTION

Moscow State University named after M.V. Lomonosov Moscow State University, Lenin Hills, 1/3, Moscow 119991 (Russia), e-mail: stavriani.andrey@gmail.com

An approach of simultaneous detection of schizandrol *A* and *B* in extracts from plant material was developed on the basis of liquid chromatography/mass spectrometry (limits of detection were 8 and 4 ng/ml for schizandrol *A* and *B* respectively). Appropriate conditions of electrospray ionization in positive ion and tandem mass-spectrometric detection in multiple reaction monitoring mode have been chosen. Analysis of extracts was carried out using a reversed-phase chromatography in gradient elution mode with C18 sorbent. The proposed approach was tested during the analysis of water infusion and water-alcoholic extract from the seeds of *Schisandra chinensis*.

It is shown that in the preparation of the traditional means – water infusion the extracted amount of the analytes was 9 times lower than that of the extraction with water-alcohol mixture. Developed method has a higher selectivity in comparison with the approaches described in the literature where UV detection is used for schizandrol *A* and *B* and similar compounds detection, and hence allows the determination of these compounds, even in case of incomplete chromatographic separation with the other components of the sample.

Keywords: high performance liquid chromatography, mass spectrometry, electrospray ionization, extraction, vegetable raw materials, *Schisandra chinensis*, schizandrol *A* and *B*.

References

1. Liu H., Lai H., Jia X., Liu J., Zhang Z., Qi Y., Zhang J., Song J., Wu C., Zhang B., Xiao P. *Phytomedicine*, 2013, vol. 20, no. 12, pp. 1135–1143.
2. *Chinese Pharmacopoeia Commission, 2010. Pharmacopoeia of the People's Republic of China Version*. Chin. Med. Sci. Press, Beijing. 2010.
3. Song Yu C., Fei L. *Clinical Guide to Chinese Herbs and Formulae*. Churchill Livingstone, London, 1993, 304 p.
4. Zhang W.D., Wang Q., Wang Y., Wang X.J., Pu J.X., Gu Y., Wang R. *Journal of Separation Science*. 2012, vol. 35, no. 17, pp. 2203–2209.
5. Peng J., Fan G., Qu L., Zhou X., Wu Y. *Journal of Chromatography A*. 2005, vol. 1082, no. 2, pp. 203–207.
6. Li L.Y., Liu Y., Li W. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*, 2011, vol. 2, pp. 158–160.
7. Wei H., Sun L.N., Tai Z.G., Gao S.H., Xu W., Chen W.S. *Analytica Chimica Acta*, 2010, vol. 662, no. 1, pp. 97–104.
8. Yuan G., Liu Y., Li T., Wang Y., Sheng Y., Guan M. *Molecules*, 2011, vol. 16, no. 5, pp. 3713–3722.
9. Wei B., Li Q., Su D., Fan R., Zhao L., Geng L., He B., Chen X., Jia Y., Bi K. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013, vol. 77, pp. 120–127.
10. Xu M., Wang G., Xie H., Huang Q., Wang W., Jia Y. *Journal of Ethnopharmacology*, 2008, vol. 115, no. 3, pp. 483–488.
11. Kim H.J., Oh M.S., Hong J., Jang Y.P. *Phytochemical Analysis*, 2011, vol. 22, no. 3, pp. 258–262.

Received May 28, 2015

Revised June 10, 2015

* Corresponding author.