

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЛЕТУЧИХ ВЕЩЕСТВ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ *PODOPHYLLUM PELTATUM*

М.П. Китаева

аспирант,
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)
E-mail: kimare@mail.ru

Я.Ф. Копытько

к.фарм.н.,
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

Т.А. Федотчева

д.м.н.,
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва);
НИЛ молекулярной фармакологии МБФ, РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Москва)

Актуальность. *Podophyllum peltatum* L. используется в современной медицине как источник получения подофиллина. В этой связи актуальным является увеличение сырьевых ресурсов лекарственного растительного сырья *P. peltatum*, для чего проводятся исследования биотехнологического способа получения культуры тканей клеточных линий из почки, корня и плода изучаемого растения. Газожидкостная хромато-масс-спектрометрия (ГЖХ-МС) является оптимальным инструментом для изучения летучих соединений, входящих в состав лекарственного растения *P. peltatum*.

Цель исследования – изучение химического состава смолы подофиллин, полученной из клеточной культуры *P. peltatum*.

Материал и методы. Объект исследования – суспензия клеточных культур *P. peltatum*, полученных из плода, почек и корня растения, которые находятся в коллекции Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений. ГЖХ-МС анализ экстрактов проводили на хроматограф-масс-спектрометре Varian GC-220MS с масс-анализатором с ионной ловушкой. Количественное определение проводили методом нормализации по площади пика.

Результаты. Во время экстракции метанолом *P. peltatum* доля подофиллина в процентах от сухой массы клеточной культуры составляла $15,98 \pm 4,82\%$ для линии клеток почек, $12,50 \pm 3,32\%$ – для плода и $18,38 \pm 3,16\%$ – для корня. ГЖХ-МС анализ экстракта выявил большое количество летучих соединений (233–490): азотсодержащие вещества, алкалоиды, сложные эфиры жирных кислот, стероиды, углеводы, гликозиды, углеводороды, кетоны и др.

Выводы. Полученные результаты позволяют более полно охарактеризовать присутствующие в биотехнологическом сырье основные и сопутствующие биологически активные вещества, а также установить их роль в процессе биосинтеза целевого продукта.

Ключевые слова: *Podophyllum peltatum*, ГЖХ-МС, азотсодержащие соединения, стероиды, карбоновые кислоты, углеводы, гликозиды, кетоны.

Для цитирования: Китаева М.П., Копытько Я.Ф., Федотчева Т.А. Изучение химического состава летучих веществ клеточной культуры *Podophyllum peltatum*. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020;23(5):45–53.
<https://doi.org/10.29296/25877313-2020-05-07>

Podophyllum peltatum L. в современной медицине применяется как источник получения подофиллина – смеси смолистых веществ, лигнанов типа арилтетралина, цитостатического соединения подофиллотоксина, являющегося основным действующим компонентом подофиллина, а также флавоноидов (кверцетина и кемпферола) [1, 2].

Газожидкостная хромато-масс-спектрометрия (ГЖХ-МС) является оптимальным инструментом для изучения летучих соединений, входящих в состав лекарственного растительного сырья *P. peltatum*. Этим методом анализируют лигнаны с использованием высокотемпературных программ и

хроматографических колонок с максимальной рабочей температурой 360–370 °С и выше, так как выход пиков этой группы веществ происходит при температуре в диапазоне 250–320 °С [3–5]. Во время анализа ГЖХ-МС подофиллотоксин и ряд родственных соединений, включая эпиизоподофиллотоксин, 4'-диметилэпиподофиллотоксин, дезоксиизоподофиллотоксин и гипофиллантин, подвергаются пиролизу с образованием артефактов, мешающих определению указанных нативных соединений [6]. Поэтому для анализа лигнанов удобнее использовать ВЭЖХ [7], но в настоящем исследовании, основанном на применении метода

ГЖХ, рассматриваются только летучие соединения, содержащиеся в *P. peltatum*, а не лигнаны. Так, с помощью ГЖХ-МС изучен состав летучих веществ этанольного извлечения из корня *Podophyllum hexandrum* Royle, найдены подофиллотоксин, жирные кислоты и их этиловые эфиры (9-гексадекановая, гексадекановая, 9,12-октадекадиеновая, октадец-9-еновая), сахароза, эфиры фталевой кислоты, ситостерол и др. [8].

Для увеличения сырьевых ресурсов лекарственного растительного сырья *P. peltatum* проводятся исследования биотехнологического способа получения культуры тканей клеточных линий из почки, корня и плода изучаемого растения [9].

Цель исследования – изучение химического состава смолы подофиллина, полученной из клеточной культуры *P. peltatum*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили суспензионные клеточные культуры *P. peltatum*, полученные из плода, почки и корня растения, находящихся в коллекции ФГБНУ ВИЛАР.

Суспензионную культуру выращивали на жидкой питательной среде Мурасиге и Скуга [10] в колбах вместимостью 500 мл, на качалке с эллиптической траекторией качания, совершающей 98–100 об/мин, при постоянной температуре 26 °С, без освещения, в течение 14 и 28 суток.

Клеточную биомассу высушивали при температуре 26 °С в течение 7 суток. Высушенную кле-

точную культуру взвешивали, измельчали в ступке до размера частиц примерно 1 мм. Затем 1,0 г измельченной клеточной культуры помещали в колбу Эрленмейера вместимостью 100 мл с притертой пробкой, добавляли 10 мл метанола, оставляли на 2 суток при комнатной температуре. После экстракции фильтровали.

ГЖХ-МС анализ экстрактов осуществляли на хромато-масс-спектрометре Varian GC-220MS с масс-анализатором типа «ионная ловушка». Хроматографическое разделение компонентов пробы проводили на кварцевой капиллярной колонке Factor FOURVF-5 ms (30 м × 0,25 мм). Газ-носитель – гелий с постоянной скоростью потока 1,0 мл/мин. В инжектор хроматографа при температуре 200 °С вводили по 1 мкл пробы.

Идентификацию разделенных компонентов проводили с использованием библиотеки масс-спектров NIST08 Mass Spectral Library и алгоритмов сравнения программного обеспечения Varian. Количественную оценку осуществляли методом нормализации по площади пиков.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При метанольной экстракции *P. peltatum* доля подофиллина в процентах от сухой массы клеточной культуры составила для клеточной линии почки 15,98±4,82%, плода –12,50±3,32%, корня – 18,38±3,16%.

ГЖХ-МС анализ экстракта выявил большое количество летучих соединений (табл. 1).

Таблица 1. Количество летучих соединений в метанольном извлечении из клеточной культуры *P. peltatum*

Показатель	Суспензионная клеточная культура					
	Плод 28-сут	Почка 28-сут	Корень 28-сут	Плод 14-сут	Почка 14-сут	Корень 14-сут
Число пиков	490	427	483	482	233	249
Число идентифицированных веществ	12	43	8	45	18	45

При ГЖХ-МС анализе 14- и 28-суточных клеточных культур, полученных из плода растения, обнаружено примерно одинаковое число пиков, но идентифицированных пиков почти в 4 раза больше в 14-суточной клеточной культуре. Анализ клеточных культур, полученных из почки и корня, выявил различия: более 200 пиков для 14-су-

точной клеточной культуры, более 400 пиков для 28-суточной культуры. Причем количество идентифицированных пиков для клеточной культуры, полученной из почки растения, уменьшается, а для клеточной культуры, полученной из корня растения, увеличивается от 14-х к 28-м суткам. Возможно, изменения общего числа пиков, получен-

ных из почки и корня, по сравнению с клетками, полученными из плода, связано с большим изменением химического состава первых в процессе жизненного цикла от 14-х к 28-м суткам, когда, как предполагается, накапливается большое количество вторичных метаболитов. Следовательно, некоторые из вновь появившихся веществ могут быть не обнаружены, перекрываемые другими, а некоторые – могут проявиться. Эти результаты соответствуют общим данным о различиях в клеточных культурах из указанных трех частей растения: более стабильна на протяжении всех жизненных циклов клеточная культура, полученная из плода, менее стабильны – клеточные культуры, полученные из почки и корня.

Помимо этого, в [11] отмечено, что для клеточной культуры, полученной из почки, характерно более раннее старение клеток, чем для клеточных культур, полученных из корня и плода. По-

этому к 28-м суткам, в силу умирания большого количества клеток, синтез вторичных метаболитов может быть уже приостановлен, их становится меньше, при этом лучше идентифицируются жирные кислоты и некоторые другие первичные метаболиты.

Карбоновые кислоты (линолевая, пальмитиновая, циклопропаноктановая и др.), 2,3-дигидро-3,5-дигидрокси-4Н-пиран-4-он идентифицированы во всех клеточных линиях, стероиды (β - и γ -ситостерол, 22-кетохолестерол, кампстерол, стигмастерол и др.) – в трех клеточных линиях (28-суточных почки и корня, 14-суточного плода), углеводы (трегалоза, сахароза, глюкопираноза и др.) – во всех клеточных линиях, кроме 28-суточной клеточной линии плода, гликозиды (десульфосинигрин, стевииозид, этил- α -D-глюкопиранозид и др.) – во всех клеточных культурах, кроме 28-суточной клеточной линии плода (табл. 2, 3).

Таблица 2. Летучие соединения метанольного извлечения из 14-суточной клеточной культуры *P. peltatum*

Название летучего соединения	Суспензионная клеточная культура, количество %		
	Плод	Почка	Корень
1	2	3	4
1,2,3-Пропантриол-1-ацетат	–	–	0,298
1,6,10,14,18,22-Тетракозагексаен-3-ол	1,237	1,237	–
1,6-Ангидро-2.4-ди-О-ацетил-бета-арабо-гексопираноза	–	–	0,341
1,6-Ангидро- β -D-глюкопираноза	–	–	3,736
14-Метилпентадекановая кислота	0,520	0,232	0,542
1-Ацетат-1,2,3-пропантриол	–	–	0,685
1-Гидроксиметилгексадекановая кислота	3,260	1,484	0,874
1-Пирролидинбутиронитрил	0,345	0,345	–
1-Циклогексилдиметилсилокси-3-метилбутан	0,408	–	–
2,2-Гидроксиэтоксоктадекановая кислота	–	–	0,691
2,2-Диметиламиноэтил-4,5-метилен	–	–	2,056
2,3-Дигидро-3,5-дигидрокси-4Н-пиран-4-он	1,717	1,509	1,850
2,3-Диметил-5-этилпиразин	0,679	0,679	–
2,3-Октандион	0,074	–	–
2,4-Дигидро-2,4,5-триметил-3Н-пиразол-3-он	0,715	0,715	–
2,4-Дигидрокси-2,5-диметил-3(2Н)-фуран-3-он	–	–	1,720
2-Бутил-2,7-октадиен-1-ол	0,145	–	–
2-Гидрокси-9-октадекановая кислота	1,951	–	–
2-Диметиламиноэтилтетрафумаровая кислота	1,119	–	–

Продолжение табл. 2

1	2	3	4
2-Метил-1,2-бензолдикарбоновая кислота	0,020	0,020	0,063
2-Метил-N-2-метилбутил-1-бутанамин	0,337	–	–
2-Метилбутиловый эфир бензойной кислоты	0,199	–	–
2-Фенил-2,5-циклогексадиен-1,4-дион	–	–	0,330
3,4-О-изопропилиден-D-галактоза	0,821	–	0,461
3-Ацетилтимин	–	–	1,175
Дигидрокси-6-(гидроксиметил)оксан-2-он (3-дезоксид-D-маннозный лактон)	–	–	0,716
3-Метил-N-3-метилбутил-1-бутанамин	0,931	–	–
4,4,6-Триметилциклогекс-2-ен-1-ол	0,237	–	–
4-1,2-Триметилсилилоксисилан	1,290	–	–
4-Гидроксибензолэтанол	–	–	1,781
4-Метил-5-деканол	0,259	–	–
4-Метил-5-тиазолэтанол	0,300	–	–
4-Фенилметилловый эфир 3-бутеновой кислоты	0,008	–	–
5,1-Гидроксигексил-тетрагидрофуран-2-он	0,093	–	–
5,6-Диметокси-1Н-индол	0,674	0,674	1,130
5-Метилгекс-2-ил изобутил фталиевой кислоты	0,155	–	–
9,12-Октадекадиеновая кислота	0,626	–	1,004
D-аллоза	–	–	1,825
D-глицеро-D-идо-гептоза	0,195	0,195	–
N-(3-оксо-4-изоксазолидинил) ацетамид	–	–	0,279
N-метил-N-нитрозо-2-пропанамин	–	–	0,150
N-метил-N-нитрозо-p-толуидин	–	–	2,299
β-Ситостерол	2,033	–	–
Аллил-2-этилбутират	0,018	–	–
Бутил-2-метилпен-3-ил фталиевой кислоты	6,255	–	–
Бутилгекс-3-иловый эфир фталиевой кислоты	–	1,017	–
Гексадекан	0,022	–	–
Гексадекановая кислота	9,209	9,209	6,4
Гексановая кислота	2,808	–	1,328
Гептиловый эфир бензойной кислоты	0,304	–	–
Глутамин	0,104	0,104	–
Дибутилфталат	–	–	4,195
Диметил(изопропил)силилпропановая кислота	0,103	–	–
Диметиламид 5-О-метил-D-глюконовой кислоты	0,069	–	–
Метилловый эфир 13-октадекановой кислоты	0,848	–	–
Метилловый эфир 1-нафталенуксусной кислоты	0,309	–	–
Метилловый эфир 7,10-октадекадиеновой кислоты	–	–	0,405
Монометилмалонат	–	–	3,269
Неоизитол	0,092	–	–

Окончание табл. 2

1	2	3	4
Нонановая кислота	0,408	–	0,128
Октадекан	0,103	–	–
Октановая кислота	0,272	–	–
Олеиновая кислота	1,806		2,64
Сахароза	9,963	9,963	3,521
Сквален	–	–	0,166
Стигмастерол	1,257	–	–
Транс-9-гексадецен-1-ол	0,157	0,157	–
Тридециловый эфир бензойной кислоты	0,039	0,039	0,315
Триметилсилил-2,4-диметил-3-пентанол	0,371	–	–
Ундециловый эфир бензойной кислоты	0,452	–	–
Этил- α -D-глюкопиранозид	12,10	12,10	5,67
Этиловый эфир-2-нафталенуксусной кислоты	0,109	–	–
Этиловый эфир-3,4-дигидроксиминдальной кислоты	0,032	–	–

Таблица 3. Летучие соединения метанольного извлечения из 28-суточной клеточной культуры *P. peltatum*

Название летучего соединения	Суспензионная клеточная культура, количество %		
	Плод	Почка	Корень
1	2	3	4
1,2,3,4-Тetraгидроизохинолин-6-ол-1	–	–	1,013
1,2-Бензенидикарбоксильная кислота	–	–	0,142
1,6-Ангидро- β -D-глюкопираноза	–	0,508	–
11,14-Октадекадиеновой кислоты метиловый эфир	–	–	1,174
14-Метилпентадекановая кислота	–	0,238	1,41
14-Метилпентадекановой кислоты метиловый эфир	–	–	0,583
1-Гидроксиметилгексадекановая кислота	–	0,470	–
1-Дезокси-D-арабитол	–	0,008	–
1-Изохинолинамин	–	–	0,118
1-Этилпиперидин	0,547	–	–
2,3-Дигидро-3,5-дигидрокси-4H-пиран-4-он	–	0,306	–
2,3-Дигидро-3,5-дигидрокси-4H-пиран-4-он	–	–	0,746
2,4-Дигидрокси-2,5-диметил-3(2H)-фуран-3-он	–	–	0,126
2,5-Диметил-4-гидрокси-3(2H)-фуранон	–	–	0,215
22-Кетохолестерол	–	–	4,274
2H-циклопента-D-пиридазин	–	–	0,078
2-Ацетило-эстра-1,3,5(10)-триен-17-он	–	0,374	–
2-Метил-N-(2-метилбутил)бутан-1-имин	1,541	0,393	–
2-Тетрагидро-2-фуранилпиперидин	–	0,157	–
2-Фенилциклопропанкарбоксильная кислота	–	0,324	–
2-Феноксинэтанол	–	0,05	–

Продолжение табл. 3

1	2	3	4
3',8,8'-Триметокси-3-пиперидил-2,2'-бинафтален-1,1',4,4'-Тетрон	–	–	1,032
3-[2-(2-диметиламиноэтил)-4.5-метилendioксифенил]-метилден-6.7-диметокси-3Н-изобензофуран-1-он	–	0,103	–
3-Гептилизобутиловый эфир фталиевой кислоты	–	0,070	–
3-Метил-2,3-дигидробензо-3-карбоксивуран	–	0,038	–
3-Метил-4-фенил-1Н-пирол	–	0,223	–
3-Метилизохинолин	–	16,6	–
4,6-О-этилиден- α -D-глюкоза	–	13,77	–
4-Гексадесиловый эфир-4-нитробензойной кислоты	0,033	–	0,028
4-Гидроксибензенэтанол	–	1,372	0,1
4-Гидроксиметиладенозин	0,137	0,092	–
4-Метил-5-тиазолэтанол	0,619	0,261	0,068
4-Метоксиметиловый эфир бензойной кислоты	–	0,105	–
4-Фенилметиловый эфир 3-бутеновой кислоты	–	0,708	–
5,6-Диметокси-1Н-индол	0,651	1,882	3,879
5-Метил-2-гексилизобутил фталиевой кислоты	–	0,188	–
7,10,13-Гексадекатриеновой кислоты метиловый эфир	–	–	0,578
7-Гексадецинал	–	–	5,137
9,12-Октадекадиеновая кислота	–	0,358	39,449
D-аллоза	–	0,597	1,219
D-глицеро-D-галактогептоза	–	–	0,326
D-глюкозамин	0,423	–	–
N-3-метил-2-пиридинил-тиомочевина	5,052	–	2,640
N-метил-N-нитрозо-p-толуидин	–	–	1,286
Z,E-3,13-октадекадиен-1-ол	–	–	0,926
β -Ситостерол	–	2,714	–
β -Ситостерол ацетат	–	0,783	–
γ -Ситостерол	–	9,143	–
Фенилацетальдегид	–	0,013	–
Бутил-3-гептиловый эфир фталиевой кислоты	–	0,475	–
Бутил-4-гептиловый эфир фталиевой кислоты	–	2,455	–
Бутилнитрит	–	0,888	–
Гексадекановая кислота	–	–	21,657
Гексадекановой кислоты этиловый эфир	–	–	2,583
Гексановая кислота	1,19	–	0,122
Гексеновая кислота	–	0,591	–
Декан	0,894	–	–
Десульфосинигрин	–	–	1,108
Дибутилфталат	–	–	8,728
Диизооктилфталат	–	–	1,251

Окончание табл. 3

1	2	3	4
Додекан	–	–	0,026
Кампестерол	–	–	8,809
Конгидрин	–	0,118	–
Линолевой кислоты этиловый эфир	–	–	4,69
Метил-9-цис,11-транс-октадекадиеноат	–	–	2,936
Метилпальмитат	–	2,705	–
Монометилмалонат	–	0,581	1,079
Пентакозан	–	0,991	–
Сквален	–	0,298	0,741
Стевиозид	–	–	1,741
Супраен	–	–	0,878
Трегалоза	–	–	16,79
Трикозан	–	0,324	–
Триинолеин	–	–	0,512
Трициклотриаконтан	–	0,873	–
Фенилэтиловый спирт	–	0,018	–
Циклопропаноктановая кислота	–	–	10,4
Эстра-1,3,5(10)-триен-17-ол	–	–	4,799
Этил-9,12-гексадекадиеноат	–	–	0,668
Этил- α -D-глюкопиранозид	–	13,218	5,928

В экстрактах обнаружены азотсодержащие соединения и алкалоиды. Так, в 14-суточных клеточных линиях плода и почки найдены глутамин, 2,3-диметил-5-этилпиразин и 2,4-дигидро-2,4,5-триметил-3Н-пиразол-3-он, 1-пирролидинбутиронитрил; во всех экстрактах изученных культур – 5,6-диметокси-1Н-индол. В экстракте из культуры плода обнаружены 4-метил-5-тиазолэтанол диметиламид 5-О-метил-D-глюконовой кислоты, в экстракте из культуры корня – N-3-оксо-4-изоксазолидинил ацетамид, N-метил-N-нитрозо-2-пропанамин и N-метил-N-нитрозо-р-толуидин.

В экстрактах из 28-суточных линий идентифицирован в значительном количестве 5,6-диметокси-1Н-индол, а также 4-метил-5-тиазолэтанол. В экстрактах культур плода и почки – 2-метил-N-(2-метилбутил)бутан-1-имин и 4-гидроксиметиладенозин, в таковых из плода и корня – N-3-метил-2-пиридинил-тиомочевина, из почки – 3-метилизохинолин, конгидрин, 2-тетрагидро-2-фуранилпиперидин, 1-этилпиперидин, 3-метилизохинолин, бутилнитрити 3-[2-(2-диметиламиноэтил)-4,5-метилendioксифенил]метил-6,7-диметокси-

3Н-изобензофуран-1-он. В экстракте из клеточной линии корня найдены 2Н-циклопента-D-пиридазин, 1-изохинолинамин, 1,2,3,4-тетрагидро-изохинолин-6-ол-1, 3-ацетилтимин, 2Н-циклопента-D-пиридазин, 3',8,8'-триметокси-3-пиперидил-2,2'-бинафтален-1,1',4,4'-тетрон и N-метил-N-нитрозо-р-толуидин, N-(3-оксо-4-изоксазолидинил)-ацетамид.

ВЫВОДЫ

1. Охарактеризован химический состав летучих веществ, составляющих метанольное извлечение высушенной клеточной культуры *P. peltatum*.
2. Определено, что и 14- и 28-суточные клеточные линии *P. peltatum* содержат большое количество летучих веществ – азотсодержащие соединения и алкалоиды, эфиры жирных кислот, стероиды, углеводы, гликозиды, углеводороды, кетоны и др.
3. Полученные результаты позволят более полно охарактеризовать присутствующие в биотехнологическом сырье основные и сопутст-

вующие биологически активные вещества, а также установить их роль в процессе биосинтеза целевого продукта.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ardalani H., Avan A., Ghayour-Mobarhan M.* Podophyllotoxin: a novel potential natural anticancer agent. *Avicenna J. Phytomed.* 2017; 7(4): 285–294.
2. *Lin M.-C., Lin J.-H., Chen S.-K., Cheng Y.-W., Cheng H.-W.* Simultaneous Determination of Podophyllotoxin, Quercetin and Kaempferol in Podophyllin by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *J. Food and Drug Anal.* 2008; 16(6): 29–40.
3. *Koulman A., Bos R., Medarde M., Pras N., Quax W.J.* A fast and simple GC MS method for lignan profiling in *Anthriscus sylvestris* and biosynthetically related Plant species. *Planta Med.* 2001; 67(9): 858–862.
4. *Жигунов О.Ю., Лебедев Я.П., Баширова Р.М.* Фенольные соединения корней *Podophyllum peltatum* L., интродуцированного в Республике Башкортостан. Фенольные соединения: свойства, активность, инновации: сб. науч. статей по материалам X Междунар. симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва, 14–19 мая 2018). М.: ИФР РАН, 2018; 269–273.
5. *Лебедев Я.П., Баширова Р.М., Ибрагимова Р.И., Мустафин А.Г.* Противоопухолевые соединения купыря лесного (*Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm). Медицинский вестник Башкортостана. 2016; № 5(65): 77–80.
6. *Ward R.S., Pelter A., Galletti G.C., Qianrong L.* Pyrolysis-GC/MS of podophyllotoxin and related compounds. *J. Anal. Appl. Pyrol.* 1993; 27(2): 187–197.
7. *Avula B., Wang Y.H., Moraes R.M., Khan I.A.* Rapid Analysis of Lignans from Leaves of *Podophyllum peltatum* L. Samples using UPLC-UV-MS. *Planta Med.* 2011; 25(11):77–75.
8. *Li M., Zhou L., Yang D., Li T., Li W.* Biochemical composition and antioxidant capacity of extracts from *Podophyllum hexandrum* rhizome. *BMC complementary and alternative medicine.* 2012; 12: 263.
9. *Савина Т.А., Цыбулько Н.С.* Изучение возможности использования клеточной культуры подофилла щитовидного в качестве источника биологически активных соединений. The Biology of Plant *in vitro* and Biotechnology: abstracts VIII International Conference. Саратов: Изд. Саратов. губерн. торгово-промышленной палаты. 2003; 88–89.
10. *Назаренко Л.В., Долгих Ю.И., Загоскина Н.В., Ралдугина Г.Н.* Биотехнология растений. М.: Издательство Юрайт, 2019. 161 с.
11. *Китаева М.П., Федотчева Т.А., Савина Т.А.* Суспензионная клеточная культура как источник получения подофиллотоксина. Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: сб. материалов VI Всеросс. научно-практич. конф. В 2-х томах. Орехово-Зуево: ГГТУ, 2019. С 89–91.

Поступила после доработки 6 апреля 2020 г.

STUDY OF CHEMICAL COMPOSITION OF VOLATILE SUBSTANCES OF *PODOPHYLLUM PELTATUM* CELLULAR CULTURE

© Authors, 2020

M.P. Kitaeva

Post-graduate Student,
All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)
E-mail: kimape@mail.ru

Ya.F. Kopytko

Ph.D. (Pharm.),
All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

T.A. Fedotcheva

Ph.D. (Med.),
All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants;
Scientific Research Laboratory of molecular pharmacology,
Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov (Moscow)

Podophyllum peltatum L. is used in modern medicine as a source of obtaining podophyllin. Podophyllin is a mixture of resinous substances, lignans such as aryl tetralin, the cytostatic compound of podophyllotoxin, which is the main active component of podophyllin, as well as flavonoids (quercetin and campferol). GC-MS is an optimal tool for studying the volatile compounds that make up the *P. peltatum* medicinal plant material. The purpose of the research was to study the chemical composition of podophyllin resin obtained from the cell culture of *P. peltatum*. The objective of the study is to conduct a chemical analysis of podophyllin resin by GC-MS. The object of the study was suspension cell cultures of *Podophyllum peltatum* L., obtained from the fetus, kidney, and root of the plant, which are in the collection of All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants. GC-MS analysis of the extracts was carried out on a Varian GC-220MS chromatograph-mass spectrometer with an ion trap mass analyzer. Quantification was carried out by the method of normalization by peak area. During methanol extraction of *P. peltatum*, the proportion of podophyllin in % of the

dry weight of the cell culture was $15.98 \pm 4.82\%$ for the kidney cell line, $12.50 \pm 3.32\%$ for the fetus, and $18.38 \pm 3.16\%$ for the root. GC-MS analysis of the extract revealed a large number of volatile compounds (233–490): nitrogen-containing substances, alkaloids, esters of fatty acids, steroids, carbohydrates, glycosides, hydrocarbons, ketones, etc.

Key words: *Podophyllum peltatum*, GC-MS, nitrogen compounds, steroids, carboxylic acids, carbohydrates, glycosides, ketones.

For citation: Kitaeva M.P., Kopytko Ya.F., Fedotcheva T.A. Study of chemical composition of volatile substances of *Podophyllum peltatum* cellular culture. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2020;23(5):45–53. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-05-07>

REFERENCES

1. Ardalani H., Avan A., Ghayour-Mobarhan M. Podophyllotoxin: a novel potential natural anticancer agent. *Avicenna J. Phytomed.* 2017; 7(4): 285–294.
2. Lin M.-C., Lin J.-H., Chen S.-K., Cheng Y.-W., Cheng H.-W. Simultaneous Determination of Podophyllotoxin, Quercetin and Kaempferol in Podophyllin by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *J. Food and Drug Anal.* 2008; 16(6): 29–40.
3. Koulman A., Bos R., Medarde M., Pras N., Quax W.J.A fast and simple GC MS method for lignan profiling in *Anthriscus sylvestris* and biosynthetically related Plant species. *Planta Med.* 2001; 67(9): 858–862.
4. Zhigunov O.Ju., Lebedev Ja.P., Bashirova R.M. Fenol'nye soedinenija kornej *Podophyllum peltatum* L., introducirovannogo v Respublike Bashkortostan. Fenol'nye soe–dinenija: svojstva, aktivnost', innovacii: sb. nauch. statej po materialam X Mezhdunar. simpoziuma «Fenol'nye soedinenija: fundamental'nye i prikladnye aspekty» (Moskva, 14–19 maja 2018). M.: IFR RAN, 2018; 269–273.
5. Lebedev Ja.P., Bashirova R.M., Ibragimova R.I., Mustafin A.G. Protivoopuholevyje soedinenija kupyrja lesnogo (*Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm). *Medicinskij vestnik Bashkortostana.* 2016; № 5(65): 77–80.
6. Ward R.S., Pelter A., Galletti G.C., Qianrong L. Pyrolysis-GC/MS of podophyllotoxin and related compounds. *J. Anal. Appl. Pyrol.* 1993; 27(2): 187–197.
7. Avula B., Wang Y.H., Moraes R.M., Khan I.A. Rapid Analysis of Lignans from Leaves of *Podophyllum peltatum* L. Samples using UPLC-UV-MS. *Planta Med.* 2011; 25(11):77–75.
8. Li M., Zhou L., Yang D., Li T., Li W. Biochemical composition and antioxidant capacity of extracts from *Podophyllum hexandrum* rhizome. *BMC complementary and alternative medicine.* 2012; 12: 263.
9. Savina T.A., Cybul'ko N.S. Izuchenie vozmozhnosti ispol'zovanija kletochnoj kul'tury podofilla shhitovidnogo v kachestve istochnika biologicheski aktivnyh soedinenij. The Biology of Plant In Vitro and Biotechnology: abstracts VIII International Conference. Saratov: Izd. Saratov. gubern. torgovo-promyshlennojpalaty. 2003; 88–89.
10. Nazarenko L.V., Dolgih Ju.I., Zagoskina N.V., Raldugina G.N. Biotehnologija rastenij. M.: Izdatel'stvo Jurajt, 2019. 161 s.
11. Kitaeva M.P., Fedotcheva T.A., Savina T.A. Suspenzionnaja kletochnaja kul'tura kak istochnik poluchenija podofillotoksina. Perspektivy vnedrenija innovacionnyh tehnologij v medicinie i farmacii: sb. materialov VI Vseross. nauchno-praktich. konf. V 2-h tomah. Orehovo-Zuevo: GGTU, 2019. S 89–91.

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ !

Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений приглашает принять участие в Международной научной конференции
«От растения до лекарственного препарата»,
которая состоится 4–5 июня 2020 года.

Тематика конференции:

1. Мобилизация генетических ресурсов лекарственных и ароматических растений для использования в медицине, фармацевтической и пищевой промышленности.
2. Лекарственное ботаническое ресурсоведение: биоразнообразие, популяционная биология, продуктивность лекарственных растений в природных экосистемах.
3. Лекарственное растениеводство: интродукция, селекция, агротехнологии.
4. Изучение метаболома растений.
5. Биотехнология в лекарственном растениеводстве.
6. Фитохимическое изучение и стандартизация лекарственного растительного сырья, субстанций и создание современных лекарственных форм.
7. Доклинические и клинические исследования лекарственных растительных средств.

Форма участия – очно-заочная Рабочие языки конференции – русский, английский.
Приём материалов (анкеты-заявки, тексты статей) – не позднее **03 апреля 2020 г.**

по e-mail: conference@vilarnii.ru

Информация о проведении представлена на сайте <http://vilarnii.ru/> в разделе «Конференции».