УДК 547.918:547.926

GC-FID/MS АНАЛИЗ ЭКСТРАКТА НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ OXYTROPIS MACRODONTA

У.М. ОМАНОВА, *М.А. АГЗАМОВА, С.А. САСМАКОВ
Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз, Ташкент

GULMIRA OZEK, TEMEL OZEK
Anadolu University Faculty of Pharmacy Department of Pharmacognosy, Eskisehir, Turkey

Аннотация: *Проведен анализ химического состава силилированных производных бутанольной фракции водно-этанольного экстракта надземной части растения Oxytropis. macrodonta методом GC-FID и GC-MS. В сумме экстрактивных соединений O. macrodonta содержатся мажорные компоненты: пинитол, седогептулоза, сахароза, а также присутствуют жирные кислоты: пальмитиновая, линолевая, олеиновая. Исследована антибактериальная и противогрибковая активность суммы летучих соединений из экстракта O. macrodonta в отношении некоторых грамотрицательных и грамположительных бактерий, а также гриба Candida albicans.*

Ключевые слова: *Oxytropis macrodonta, пинитол, седогептулоза, сахароза, пальмитиновая, линолевая, олеиновая кислоты, GC-FID/MS, антибактериальная и противогрибковая активность*

В Институте химии растительных веществ АН Р Узбекистан проводились исследования некоторых видов растений рода *Oxytropis* на содержание алкалоидов [1, 2], стероидов и флавоноидов [2-4]

Мы продолжили исследования надземной части растения *Oxytropis macrodonta* Gontsch – остролодочник *Oxytropis* крупнозубый [5] семейства Fabaceae.

Ранее при разделении суммы бутанольной фракции надземной части *O. macrodonta* на химические компоненты были идентифицированы 13 соединений фенольной природы методом хроматографического анализа HRLC-MS. Данные хроматограммы показали, что наряду с флавоноидами присутствовали фенолкислоты, а также секоиридоидный гликозид олеуропеин. Среди фенолкислот – сиреневая кислота и п-кумаровая кислота оказались мажорными компонентами суммы.

Цель работы – исследование метаболитов бутанольной фракции экстракта надземной части растения *O. macrodonta* методом GC-FID/MS анализа.

Экстракцию высушенного и измельченного растения *O. macrodonta* проводили 70% этиловым спиртом, как указано в [5].

Образцы бутанольной фракции экстракта сушили на роторном испарителе и проводили реакции получения силильных производных для определения химического состава.

Углеводы переводили в силильные производные для анализа с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии (GC-FID/MS). Этот процесс превращения гидроксильных групп углеводов в силильные эфиры, делает их более летучими. Реагентом является BSTFA (бис-триметилсилилтрифторацетамид).

Для анализа химического состава методом GC-FID и GC-MS получили производные из бутанольной фракции водно-этанольного экстракта *O. macrodonta* путем силилирования.

Навеску 2,0 мг высушенной бутанольной фракции растворяли в 80 мкл пиридина и затем к смеси добавляли 80 мкл N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамида (BSTFA), содержащей 1% триметилхлорсилана (TMCS).

Реакционную смесь встряхивали и нагревали при 100°C в течение 1 часа в песочной бане для получения силильных производных. После охлаждения реакционной смеси до комнатной

температуры 1,0 мкл силилированного раствора пробы вводили непосредственно в капиллярную колонку прибора GC-FID и GC-MS для качественного и полуколичественного анализа полученного продукта.

Таблица 1. GC-FID/MS анализ бутанольной фракции силилированных производных компонентов *O. macrodonta*

Соединение	RRI	%
2-деокси-галактопираноза-4TMS	1758	0,3
□-D-метилфруктофуранозид-4TMS	1809	0,8
□-фруктофураноза-5TMS	1843	0,4
□-D-фруктофураноза-5TMS (изомер 2)	1852	0,6
D-(-)-фруктопираноза-5TMS (изомер 1)	1858	1,2
D-(+)-**Pinitol**-5TMS (= Сеннитол-5TMS)	1870	27,2
этил–D-глюкопиранозид-4TMS	1914	1,0
Седогептулоза-6TMS	1971	4,6
□-D-глюкопиранозид-5TMS	2023	0,4
Гексадекановая кислота (=Пальмитиновая кисслота-TMS)	2049	0,4
Линолевая кислота-TMS (= (Z,Z)-9,12-октадекадиеновая кислота TMS)	2217	0,8
Олеаноловая-TMS (= cis-9-октадекановая кислота-TMS)	2221	1,3
Сахароза-8TMS (=1-α-D- Glcp-2-β-D-frucf)-8TMS)	2713	3,1
Углеводные производное TMC*	2782	24,9
1. *Идентификация на основе данных масс-спектров из библиотеки Wiley GC/MS.		

В табл. 1 приводятся данные времени удерживания (RRI) идентифицированных соединений и выход метаболитов в процентах относительно бутанольной фракции *O. macrodonta.* Экстракт имеет высокое содержание углеводов с пинитолом в качестве основного компонента. Эти результаты показывают богатый полярный фитохимический состав надземной части *O. macrodonta.*

Впервые в исследованной сумме экстрактивных соединений надземной части растения *O. macrodonta* выявлены следующие мажорные компоненты: пинитол (27%), седогептулоза (4,6%), сахароза (3,1%), соответственно. В экстракте также присутствуют жирные кислоты: пальмитиновая (0,4%), линолевая (0,8%), олеиновая (1,3%)

Анализ силилированного образца с помощью GC-FID/ MS

Силилированная бутанольная фракция *O. macrodonta* была проанализирована с использованием газового хроматографа Agilent 7890A, соединенного с инертным масс-селективным детектором (МСД) 5975C с трехосьным детектором (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США). Хроматографическое разделение было достигнуто на капиллярной колонке HP-5 FSC (30 м × 0,25 мм внутр. диам., толщина пленки 0,25 мкм; Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA).

В качестве газа-носителя использовали гелий с постоянной скоростью потока 0,8 мл/мин. Температурная программа печи была следующей: начальная температура 100°C, повышаемая со скоростью 3°C/мин до 320°C, затем изотермическое удержание при 320°C в течение 16,67 минут. Образец вводился в режиме без разделения потока при температуре инжектора 250°C. Температура FID поддерживалась на уровне 300°C. Масс-спектры были получены в режиме электронного удара (EI) при 70 эВ в диапазоне сканирования 35–1050 m/z.

Идентификация соединений проводилась путем сравнения полученных масс-спектров и времен удерживания с данными аутентичных стандартов и записей в библиотеке Wiley GC/MS (Wiley, New York, NY, USA) и внутренней «Специальной библиотекой производных

силилированных соединений Özek», разработанной специально для силилированных фитохимических веществ. Количественный анализ проводился путем расчета относительного процента каждого пика на основании FID хроматограммы.

Материалы

Этанол, пиридин, диметилсульфоксид (DMSO), галловая кислота, N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамид (BSTFA), содержащий 1% триметилхлорсилана (TMCS). Гомологичный ряд н-алканов (C_8–C_{40}) для расчета индекса удерживания был получен от Fluka (Buchs, Switzerland).

Соединения идентифицировали на основании сравнения характеристик масс-спектров с данными электронных библиотек (Wiley Registry of Mass Spectral Data-9th Ed. NIST Mass Spectral Library, 2011) и сравнения индексов удерживания (ИУ) соединений, определенного по отношению ко времени удерживания гомологического ряда *н*-алканов (C_8-C_{40}), сравнения их масс-спектральной фрагментации с таковыми описанными в литературе [6-8].

Таким образом, методом GC-FID/MS идентифицирован состав бутанольный фракции надземной части растения *O. macrodonta* на содержание углеводных компонентов и жирных кислот.

Антибактериальная и противогрибковая активность суммы летучих компонентов

Исследовали антибактериальное и противогрибковое действие суммы летучих соединений из *O. macrodonta* в отношении некоторых грамотрицательных и грамположительных бактерий, а также гриба *Candida albicans*.

Модифицированный метод диск-диффузии в агаре был использован для оценки антибактериальной и противогрибковой активности [9, 10].

Штаммы микроорганизмов - *Pseudomonas* aeruginosa (ATCC 27879), *Escherichia coli* (RKMUz - 221), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (RKMUz – 5) и *Candida albicans* (RKMUz - 247) были использованы в качестве тест культур.

При этом наиболее чувствительным к воздействию малополярных компонентов экстракта оказались штаммы бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC 2592 (16.08±0.12 мм) и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27879 (11.12±0.13 мм) (табл. 2).

Таблица 2. Антибактериальная и противогрибковая активность экстракта летучих компонентов *O. macrodonta*

Образцы	**Диаметры зоны ингибирования (мм, ± SD, P≤0.05)**				
	Грамотрицательные бактерии		**Грамположительные бактерии**		**Условно-патогенный гриб**
	P. aeruginosa	*E. coli*	*S. aureus*	*B. subtilis*	*C. albicans*
Экстракт *O. macrodonta*	11.12±0.13	7.04±0.10	16.08±0.12	8.04±0.10	nt
Ампициллин (10 µг/диск)	nt	nt	27.08±0.12	26.04±0.10	nt
Цефтриаксон (30 µг/диск)	25.12±0.13	27.04±0.10	nt	nt	nt
Флуконазол (25 µг/диск)	nt	nt	nt	nt	29.04±0.10

Результаты *in vitro* тестов показали, что экстракт летучих компонентов, полученный из растения *O. macrodonta* проявляет антибактериальную активность в различной степени выраженности в отношении всех исследованных штаммов бактерий. При этом наиболее

чувствительным к воздействию суммы оказались штаммы бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC 2592 (16.08±0.12 мм) и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27879 (11.12±0.13 мм).

Благодарность. Работа выполнена при поддержке бюджетной программы фундаментальных научных исследований АН Р Узбекистан

ЛИТЕРАТУРА

1. V.I. Akhmedzhanova, D. Batsuren & R.S. Shakirov. *Chem Nat Compd*., **29 (6)**, 778 (1993).
2. V.I. Akhmedzhanova D. Batsuren. *Chem Nat Compd*., **33 (3)**, 326 (1997)
3. Sh.A. Sulaymonov, B. J. Komilov, K.A. Eshbakova, G.O. Mamajanov, Sh.V. Abdullayev.*Chem Nat Compd*., **59** (5), 937 (2023)
4. Sh.A. Sulaymonov, B.D. Komilov, K.A. Eshbakova, G.O. Mamajanov, N.D. Abdullaev, Sh.V.Abdullaev. *Chem Nat Compd*., **61 (1),** 56 (2025)
5. M.A. Агзамова, У.М. Оманова, Gulmira Ozek, Temel Ozek. *Chem Nat Compd*., **61**(**5)**, 845 (2025)
6. R.P. Adams. Ed. 4.1. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, 2017. 804p.
7. V.I. Babushok, P.J. Linstrom, I.G. Zenkevich, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, **40** (4), 1 (2011)
8. V.A. Isidorov. Identification of biologically and environmentally significant organic compounds: Mass spectra and retention indices library of trimethylsilyl derivatives. Wydawnictwo Naukowe PWN. 2015. p. 429. ISBN-13: 978-8301182571
9. S.A. Sasmakov, F.Yu. Gazizov, Zh.M. Putieva, K. Wende, Z. Alresly, and U. Lindequist. *Chem. Nat. Compd.*, **48** (1), 11 (2012)
10. N.Z. Mamadalieva, F.S. Youssef, M.L. Ashour, D.Kh. Akramov, S.A. Sasmakov, N.Sh. Ramazonov, Sh.S. Azimova. *Natural Product Research*, **35** (4), 696 (2021).