

НАУЧНЫЙ СОВЕТ РАН
ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

НАУЧНЫЙ СОВЕТ РАН
ПО ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ

САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АЭРОКОСМИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.П. КОРОЛЁВА
(НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



**Всероссийская конференция
«Теория и практика хроматографии»
с международным участием,
посвященная памяти проф. М.С. Вигдергауза**

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ РАН ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ
НАУЧНЫЙ СОВЕТ РАН ПО ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ
САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АЭРОКОСМИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.П. КОРОЛЁВА
(НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)
САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**



ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ:

Шпигун О.А., чл.-корр. РАН – председатель

Онучак Л.А., д.х.н. – зам. председателя

Платонов И.А., д.т.н. – зам. председателя

Никитченко Н.В., к.х.н. – ученый секретарь

Копытин К.А., к.х.н. – ученый секретарь

Андрончев И.К., д.т.н.

Буланова А.В., д.х.н.

Буряк А.К., д.х.н.

Быков Д.Е., д.т.н.

Гарькин В.П., к.х.н.

Гречников Ф.В., член-корр. РАН

Дискина Д.Е., к.х.н.

Даванков В.А., д.х.н.

Занозина И.И., д.т.н.

Золотов Ю.А., академик РАН

Карцова Л.А., д.х.н.

Кирш Соломон, PhD.

Красиков В.Д., д.х.н.

Крутов А.Ф., д.ф.-м.н.

Курбатова С.В., д.х.н.

Курганов А.А., д.х.н.

Ланин С.Н., д.х.н.

Лобачев А.Л., д.х.н.

Москвин Л.Н., д.х.н.

Селеменев В.Ф., д.х.н.

Шахматов Е.В., д.т.н.

Яшин Я.И., д.х.н.

Симпозиум проводится при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №15-03-20263 Г), организаций и фирм:

1. Самарский государственный университет
2. Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С.П. Королёва (национальный исследовательский университет)
3. Самарский государственный технический университет
4. ООО «Брукер»
5. ЗАО НТЦ «БиАСеп»
6. ООО «Сигма-Алдрич Рус»
7. ООО «МЭМС»
8. ООО «Аналит-Продактс»

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОФЕИЛХИННЫХ КИСЛОТ В ТРАНСГЕННЫХ КЛЕТКАХ АРТИШОКА

Григорчук В.П.¹, Рыбин В.Г.², Булгаков В.П.¹, Чернобаев Г.К.¹

¹Биолого-почвенный институт ДВО РАН,
690022, г. Владивосток, пр-т 100-лет Владивостоку, д. 159;

²Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,
690059, г. Владивосток, ул. Пальцевого, д. 17.

E-mail: kera1313@mail.ru

Кофеилхинные кислоты (КК) относятся к сложным эфирам хинной и кофейной кислот. Являясь вторичными метаболитами высших растений, эти соединения содержатся в зернах кофе, семенах подсолнечника, чернике, артишоке и др. Фармакологические свойства КК обусловлены в основном их сильным антиоксидантным действием. В настоящее время для получения ценных биологически активных веществ используют биотехнологический подход. Объектом исследования были каллусные культуры клеток артишока *Cynara cardunculus* L., культивируемые *in vitro* на агаризованной среде и трансформированные геном *rolC* агробактерий *Agrobacterium rhizogenes* [1].

Одним из основных подходов в анализе КК в биологических объектах является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с УФ и/или масс-спектрометрическим (МС) детектированием. При отсутствии стандартных образцов КК проведение их идентификации оказывается затруднительным. Этот недостаток можно преодолеть, используя тандемную масс-спектрометрию высокого разрешения (ТМСВР). Мы применили технику ВЭЖХ с ТМСВР в анализе состава КК в экстрактах из клеток артишока. Анализ проводили на хроматомасс-спектрометре LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Япония) с использованием колонки Ascentis C18 (100 мм × 2.1 мм × 3 мкм, Supelco, США) при градиентном элюировании от смеси вода-уксусная кислота (1000:1) до ацетонитрила за 35 мин со скоростью 0.2 мл/мин. МС детектирование КК проводили в режиме ионизации электрораспылением и регистрации отрицательных ионов. Диапазон регистрируемых значений *m/z* составил 100-1000. Регистрацию хроматографического сигнала также проводили с использованием детектора на диодной матрице SPD-M20A (Shimadzu, Япония). УФ-спектры записывали в диапазоне 190-360 нм. Количественный анализ проводили при помощи стандартных образцов хлорогеновой кислоты (5-КК) и цинарина (1,3-ди-КК) (Sigma-Aldrich, США), используя калибровочные кривые. На основании известных профилей фрагментации квазимолекулярных ионов [M-H]⁻ КК на второй стадии ТМСВР, а также фрагментации полученных дочерних ионов на третьей стадии [2, 3], проведена достоверная идентификация компонентов смеси КК в этих экстрактах. Установлено, что основным компонентом смеси является 1,5-дикофеилхинная кислота (59±5 % от суммы). Остальные компоненты определены как 1,3-, 3,4- и 1,5-изомеры ди-КК, а также 3- и 5- изомеры моно-КК. Содержание суммы КК в нетрансгенных и трансгенных каллусных культурах клеток артишока достигало 6.5±0.2 и 15.4±0.5 мг/г сухого веса соответственно. Описанный метод применяется для контроля биосинтеза КК при культивировании каллусных культур клеток артишока.

Библиографические ссылки

1. Bulgakov, V.P. Engineering high yields of secondary metabolites in Rubia cell cultures through transformation with *rol* genes [Text] / V.P. Bulgakov, Y.N. Shkryl, G.N. Veremichick // Methods Mol. Biol. - 2010. - V. 643. - P.229-242.
2. Clifford, M.N. Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MS(n) [Text] / M.N. Clifford, S. Knight, N.J. Kuhnt // Agric. Food Chem. - 2005. - V. 53. - P.3821-3832.
3. Chen, R. Qualitative and quantitative analysis of phenylpropanoids in cell culture, regenerated plantlets and herbs of *Saussurea involucre* [Text] / R. Chen, X. Liu, J. Zou, L. Yang, J. Dai // J. Pharm. Biomed. Anal. - 2013. - V. 74. - P.39-46.