

DOI: 10.30906/0023-1134-2022-56-1-32-38
© Коллектив авторов, 2022

О. А. Бочарова¹, И. В. Казеев¹, В. Е. Шевченко¹, О. П. Шейченко²,
В. В. Поройков³, Е. В. Бочаров¹, Р. В. Карпова¹, Н. С. Ионов³, В. Г. Кучеряну⁴,
В. С. Косоруков¹, В. Б. Матвеев¹, И. С. Стилиди¹

ВОЗМОЖНОСТИ СТАНДАРТИЗАЦИИ МУЛЬТИФИТОАДАПТОГЕНА: ТАНДЕМНАЯ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ ДЛЯ АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ

¹ ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава Российской Федерации, Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24.

² Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Россия, 117216, Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1.

³ ФГБНУ "Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича", Россия, 119121, Москва, Погодинская ул., д. 10, стр. 8.

⁴ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8.

e-mail: imufarm@rambler.ru

С применением тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС) проведен анализ биологически активных веществ в экстракте корневищ и корней родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L. сем. *Crassulaceae*), а также в составе фармацевтической композиции Мультифитоадаптоген (МФА). Хроматографирование проводили на колонке ACQUITY UPLC VEN C18 в градиентном режиме. Использовали тройной квадрупольный масс-спектрометр TSQ Vantage с электрораспылительной ионизацией. В МФА, как и в экстракте корневищ и корней родиолы розовой, были идентифицированы салидрозид, розавин, розарин, розиридин и родионин. Результаты могут быть использованы для стандартизации, идентификации и контроля качества фитокомплексов, в состав которых входят указанные соединения родиолы розовой, а также для обоснования механизмов биологического действия МФА и изучения его новых свойств с учетом выявленных компонентов. С помощью компьютерной программы PASS выполнена оценка *in silico* спектра противоопухолевой активности этих соединений. Показано, что противоопухолевый эффект прогнозируется с высокой вероятностью для всех пяти фитокомпонентов; при этом специфика действия отдельных соединений обуславливает возможности применения их комбинации для лечения широкого спектра злокачественных новообразований.

Ключевые слова: *Rhodiola rosea* L.; ВЭЖХ-МС/МС; фитоадаптогены; салидрозид; розавин; розарин; розиридин; родионин; противоопухолевая активность; оценка *in silico*.

Классические фитоадаптогены женьшень настоящий *Panax ginseng*, родиола розовая *Rhodiola rosea*, аралия маньчжурская *Aralia mandshurica*, заманиха высокая *Oplonanax elatus*, элеутерококк колючий *Eleutherococcus senticosus*, лимонник китайский *Schizandra chinensis* и др. обладают комплексным защитным действием на организм, в том числе повышают его противоопухолевую устойчивость. Однако к отдельным адаптогенам может развиваться резистентность. Поэтому актуальными и научно значимыми являются исследования многокомпонентных фитоадаптогенных комплексов, основанных на принципе рационального сочетания взаимодополняющих по действию биологически активных веществ. Применение нескольких адаптогенов в составе одной фитоформулы позволяет воздействовать на организм, не вызывая резистентности [1].

Вместе с тем актуальным является обоснование фармакологической активности многокомпонентных

препаратов с учетом их химического состава, так же, как и проблема стандартизации.

В Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н. Н. Блохина разработана фармацевтическая композиция Мультифитоадаптоген (МФА), которая содержит компоненты экстрактов 40 растений, в том числе адаптогенов женьшеня, аралии, элеутерококка, родиолы розовой, заманихи, лимонника. В экспериментальных и клинических исследованиях выявлены антимуtagenные, противоопухолевые, радиопротекторные, гормономодулирующие, антиоксидантные, нейропротекторные, иммуномодулирующие, в том числе противовоспалительные и интерферогенные эффекты МФА [2 – 7]. Несомненно, эффективность МФА обусловлена комплексом биологически активных веществ (БАВ), входящих в его состав.

Для поиска путей стандартизации и контроля качества МФА проводятся исследования по определению БАВ его составляющих. Ранее в МФА были определе-

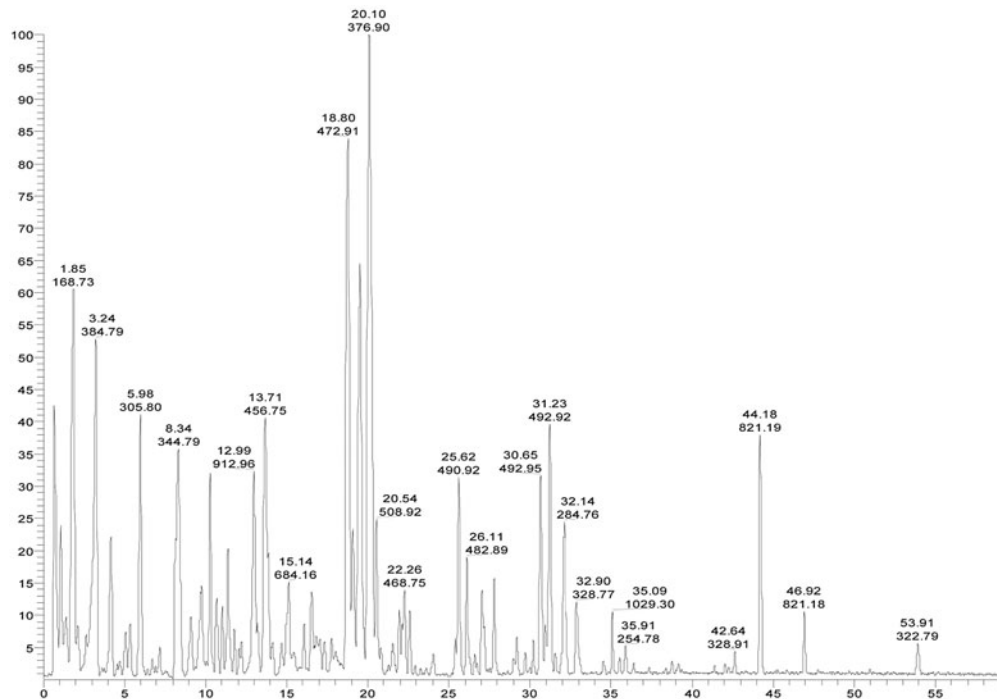


Рис. 1. Хроматограмма экстракта родиолы розовой в режиме полного ионного тока.

ны полифенольные соединения (флавоноиды и др.), эфирные масла, аминокислоты и витамины с применением обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием, хромато-масс-спектрометрии, ЯМР-спектроскопии [8]. Также среди компонентов МФА методом ВЭЖХ-МС/МС были идентифицированы тритерпеновые сапонины, основные БАВ, в частности, женьшеня и аралии. Так, были определены гинзенозиды Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Rg₁, Rg₂, Re, Rf, Ro и аралозиды А, В, С и/или их изомеры [9, 10].

Следующим этапом анализа компонентного состава МФА является определение БАВ экстракта корневищ и корней родиолы розовой, входящей в состав фармкомпозиции, с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Этот метод отличается высокой специфичностью, точностью и возможностью определения веществ в минимальных количествах.

Родиола розовая, “золотой корень”, *Rhodiola rosea* L., сем. *Crassulaceae* (Толстянковые) — относительно редкое и ценное лекарственное растение, произрастающее в арктических и горных регионах Европы, Азии и Северной Америки [11]. Название “золотой корень” растение получило по корневищу, которое имеет цвет бронзы или старой позолоты с перламутровым блеском. В ее корнях и корневищах содержатся фенолы (салидрозид), ароматические соединения (розавин, розарин), терпеноиды (розиридин, розиридол), флавоноиды (родионин, родиозин), стероиды (β -ситостерин, даукостерин), дубильные вещества и др. [12 – 14]. Родиола розовая на протяжении веков традиционно использовалась в качестве средства, продлевающего жизнь. Экстракт родиолы розовой обладает свойства-

ми адаптогена, повышая устойчивость организма к многофакторному влиянию внешней среды. В медицинской практике успешно используются его иммуномодулирующие, антистрессорные, противоопухолевые, антиоксидантные свойства [15 – 17].

В связи с этим целью данного исследования явилось выявление БАВ родиолы розовой в МФА методом ВЭЖХ-МС/МС.

Экспериментальная часть

В работе исследовали 2 образца: МФА, а также экстракт корней родиолы розовой, входящий в состав МФА. Для получения образцов экстрактов использовали сертифицированное сырье, а также соответствующую технологию (удельный вес сырья, температурный и временной режим экстрагирования, состав экстрагента, соотношение сырье : экстрагент).

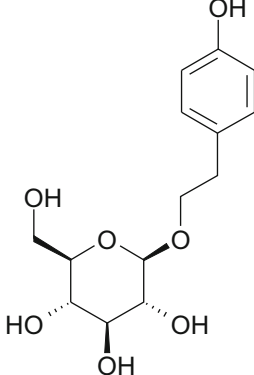
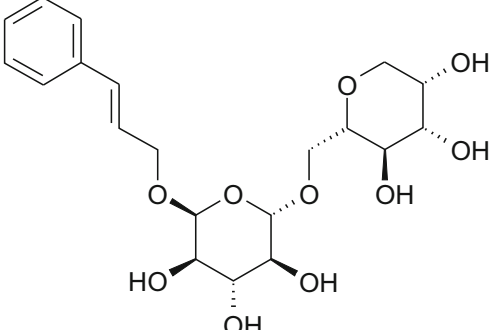
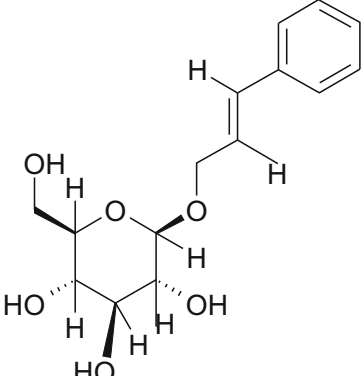
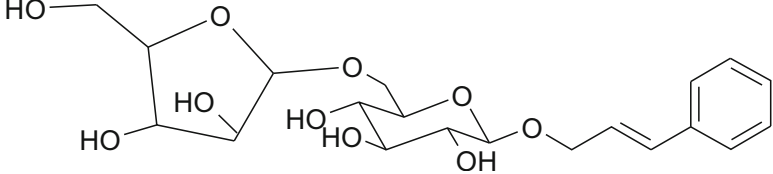
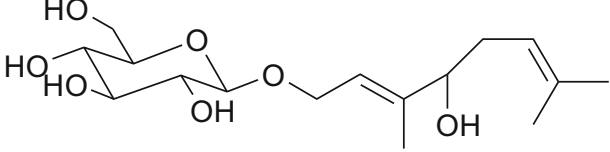
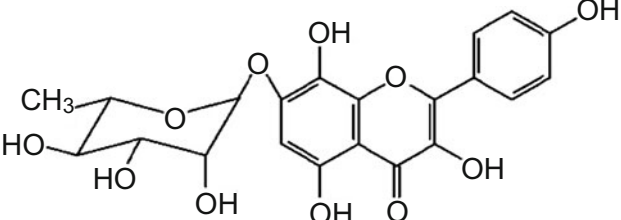
Образец МФА смешивали с метанолом в соотношении 1:2 и центрифугировали в течение 5 мин при 13000 об/мин. Надосадочную жидкость пропускали через фильтр с диаметром пор 0,22 мкм и центрифугировали при 13000 об/мин в течение 1 мин.

Аликвоту (1 мл) экстракта родиолы розовой упаривали на роторном испарителе Concentrator 5301 (Eppendorf, Германия) при 30 °С досуха. Остаток растворяли в 100 мкл метанола и центрифугировали при 13000 об/мин в течение 1 мин.

Анализ образцов проводили с использованием тройного квадрупольного масс-спектрометра TSQ Vantage (серии Thermo Scientific TSQ), соединенного с ВЭЖХ-хроматографом Accela.

Условия хроматографического анализа: колонка ACQUITY UPLC BEH C18 (1,7 мкм, 2,1 × 100 мм, Waters); состав подвижной фазы: фаза А — 0,1 % вод-

Структурные формулы основных БАВ родиолы розовой по данным литературы

№	Соединение	Структурная формула
1	Салидрозид	
2	Розавин	
3	Розин	
4	Розарин	
5	Розиридин	
6	Родионин	

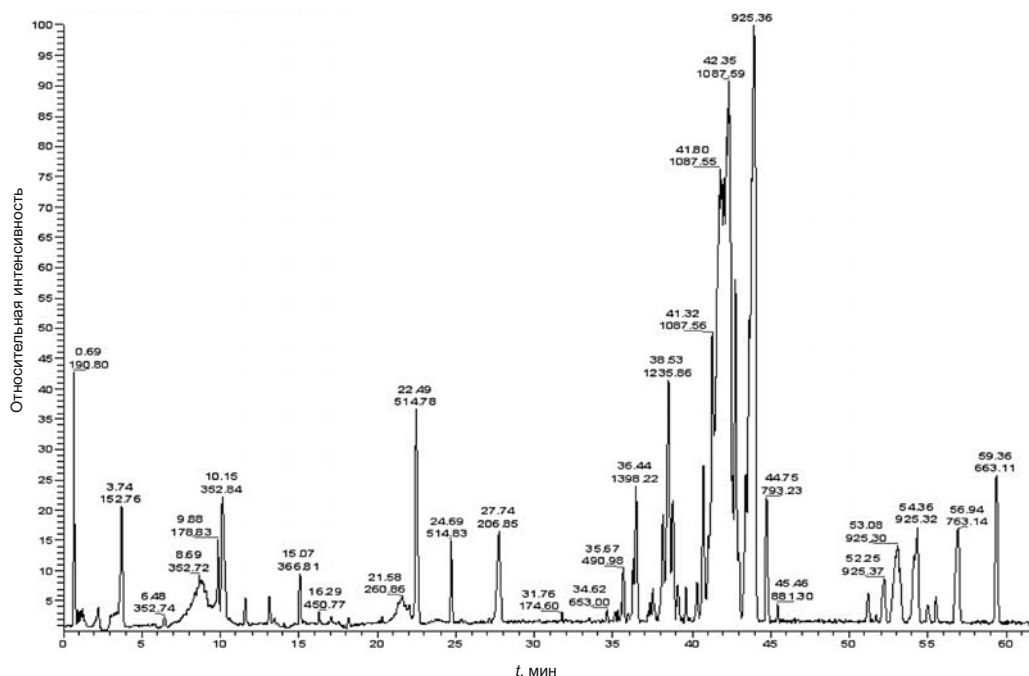


Рис. 2. Хроматограмма мультифитоадаптогена в режиме полного ионного тока.

ный раствор муравьиной кислоты (FA), 100 %; фаза Б — ацетонитрил, 95 %, 0,1 % водный раствор муравьиной кислоты (FA), 5 %.

Для анализа экстрактов применяли градиентный режим подачи подвижной фазы (в % фазы Б): 0 – 68 мин (0 – 60 %), 68 – 70 мин (60 – 100 %), 70 – 75 мин (100 %), 75 – 80 мин (0 %). Образцы в объеме 5 мкл вводили в петлю инжектора объемом 25 мкл (мобильная фаза — 20 мкл), скорость потока 450 мкл/мин.

Ионизацию осуществляли с помощью электро-спрея. Условия ионизации: отрицательная полярность, напряжение капилляра спрея 4 кВ, газ (создающий спрей) — 60 psi, обтекающий газ — 15 отн. ед., температура капилляра — 270 °С. Спектры в режиме полного сканирования ионов и в выбранном режиме ионного мониторинга (SIM) были зарегистрированы в диапазоне 150 – 1500 Да, время сканирования — 0,1 с.

Масс-спектры получали прямым вводом пробы через шприц со скоростью 5 мкл/мин; давление газа в камере соударений составило 0,9 торр. Напряжение в камере соударений было подобрано для каждого соединения отдельно.

Результаты и их обсуждение

Анализ данных литературы о химическом составе корней и корневища родиолы розовой показал, что основными биологически активными соединениями (эталонными маркерами) этого растения являются гликозид фенолэтанола салидрозид, гликозиды фенолпропаноидов розавин, розарин, розин, гликозид монотерпена розиридин, флавоноид родионин [12 – 14, 16 – 20]. В табл. 1 приведены их структурные формулы.

Для выявления БАВ в экстракте родиолы розовой, входящем в состав МФА, была получена хроматограмма экстракта, снятая в режиме полного сканирования ионов (рис. 1).

Идентификацию пиков, соответствующих основным соединениям родиолы розовой, проводили в выбранном режиме ионного мониторинга (SIM).

В табл. 2 представлены результаты тандемной масс-спектрометрии экстракта родиолы розовой (R_t , m/z для основного молекулярного иона, а также для фрагментов молекулярного иона), а также молекулярный вес соединений, MW (Da).

Как видно из табл. 2, все исследуемые соединения родиолы розовой образуют ионы-аддукты $[M + FA - H]^-$ с муравьиной кислотой (FA), входящей в состав мобильной фазы: салидрозиду соответствует пик с m/z 344,8 и временем удерживания $R_t = 8,3$ мин, розавину (и/или розарину) — один из пиков с m/z 472,9 и $R_t = 18,8, 19,5$ и 20,2 мин; розину — пик с m/z 340,8 и $R_t = 19,1$ мин; розиридину — пик с m/z 376,7 и $R_t = 20,04$ мин; а родионину соответствует пик с m/z 492,9 ($R_t = 31,2$ мин).

На рис. 2 представлена хроматограмма экстракта мультифитоадаптогена в режиме полного ионного тока.

Анализ хроматограммы МФА, полученной в тех же условиях, что и хроматограмма экстракта родиолы розовой, проводили в выбранном режиме мониторинга ионов, соответствующих основным молекулярным ионам соединений родиолы (на основании данных табл. 2).

В результате исследования на хроматограмме МФА были обнаружены пики, которые можно отнести к салидрозиду, розавину, розарину, розиридину и родионину. Пик, который можно было бы отнести к розину,

обнаружен не был. Тем самым было подтверждено присутствие 5 перечисленных соединений в МФА.

Анализ литературы, посвященной биологической активности выявленных соединений, дал следующие результаты. Выявлено, что салидрозид проявляет антипролиферативную активность в отношении клеток рака мочевого пузыря, почки, желудка, толстой кишки, печени, легкого, кожи, молочной железы, яичников, цервикального канала, также в отношении глиом и фибросарком [21 – 25]. Показано, что цитотоксическое действие салидрозид, розарина и розавина в отношении опухолевых клеток опосредуется воздействием на экспрессию TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) через фосфорилирование ERK (extracellular

signal-regulated kinase) [26]. Также у салидрозид выявлены антиоксидантная, иммуномодулирующая, противовоспалительная, антидиабетическая, антидепрессантная, антигиперлипидемическая, геропротекторная активности [27 – 29]. Вместе с тем салидрозид обладает нейропротекторной активностью в отношении дофаминергических нейронов [30]. У розавина, розарина и салидрозид выявлена радиопротекторная активность, а также антиоксидантное, противовоспалительное, противоопухолевое, кардиопротекторное и нейропротекторное действие [31].

Следует подчеркнуть, что выявление индивидуальных веществ важно для обоснования биологической активности комплексного препарата. К тому же, что давно известно, чистые БАВ родиолы, женьшеня, левзеи и других адаптогенов проявляют выраженную токсичность на моделях *in vitro* и *in vivo*. Вместе с тем те же вещества, находящиеся среди других, нетоксичных компонентов экстракта, реализуют свое биологическое действие в полной мере, не проявляя токсичности и оказывая геропротекторный эффект. Последнее имеет определяющее значение при разработке эффективных препаратов фитоадаптогенов [32].

Сравнивая биологические свойства БАВ родиолы из данных литературы с таковыми для МФА, можно видеть определенное соответствие. Так, для МФА также показана антипролиферативная активность *in vitro* в отношении клеток гипернефромы, рака яичников, шейки матки, легкого. Противоопухолевая активность выявлена для гепатокарциномы животных и аденокарциномы желудка человека. Определены антиоксидантное, радиопротекторное, иммуномодулирующее, нейропротекторное и геропротекторное действие МФА [33 – 40].

Учитывая виды биологической активности выявленных БАВ экстракта родиолы розовой, включенного в состав МФА, можно обосновать уже известные свойства МФА, а также оценить *in silico* спектры противоопухолевого действия отдельных фитокомпонентов и их комбинации. С этой целью мы также выполнили прогноз 350 фармакотерапевтических эффектов и механизмов противоопухолевого действия для каждого из 5 фитокомпонентов с использованием компьютерной программы PASS, которая ранее успешно использовалась для оценки биологической активности природных соединений растительного происхождения [41 – 43]. Полученные результаты приведены на рис. 3.

Как видно из представленных на рис. 3 данных, все 5 идентифицированных фитокомпонентов потенциально могут проявлять противоопухолевое действие по отношению к таким злокачественным новообразованиям, как лимфома, мелкоклеточный рак легкого, остеосаркома, рак поджелудочной железы, рак головы/шеи, рак мочевого пузыря, саркома Капоши, рак легких, рак кожи, рак печени, рак мозга и рак груди. В то же время, например, для колоректального рака и рака шейки матки противоопухолевый эффект прогнозируется с вероятностью $P_a > 0,3$ только для 4 из 5 фитокомпонентов (розарин, розавин, родионин и

Таблица 2

Результаты тандемной масс-спектрометрии экстракта родиолы розовой (R_t , m/z для основного молекулярного иона и его фрагментов) и молекулярный вес соединений

Соединение (молекулярная формула*)	R_t , мин	m/z	MW*, Da
Салидрозид ($C_{14}H_{20}O_7$)	8,3 – 9,7	344,8	300,3
		[M + FA – H] [–]	
		298,7 [M – H] [–]	
		283,6	
		118,7	
Розавин ($C_{20}H_{28}O_{10}$)/ Розарин ($C_{20}H_{28}O_{10}$)	18,8 – 19,2 19,5 – 19,8 20,2 – 20,3	472,9	428,4/ 482,4
		[M + FA – H] [–]	
		426,8 [M – H] [–]	
		294,6/293,1	
		[M – H – Ara] [–]	
Розин ($C_{15}H_{20}O_6$)	19,1 – 19,4	340,8	296,3
		[M + FA – H] [–]	
		376,7	
		340,7 [M – H] [–]	
		214,5	
Розиридин ($C_{16}H_{28}O_7$)	20,0 – 20,6	376,7	332,4
		[M + FA – H] [–]	
		340,7 [M – H] [–]	
		214,5	
		178,8	
Родионин ($C_{21}H_{20}O_{11}$)	30,6 – 30,8 31,2	492,8	448,0
		[M + FA – H] [–]	
		446,8 [M – H] [–]	
		330,8	
		298,4	

* — По данным литературы.

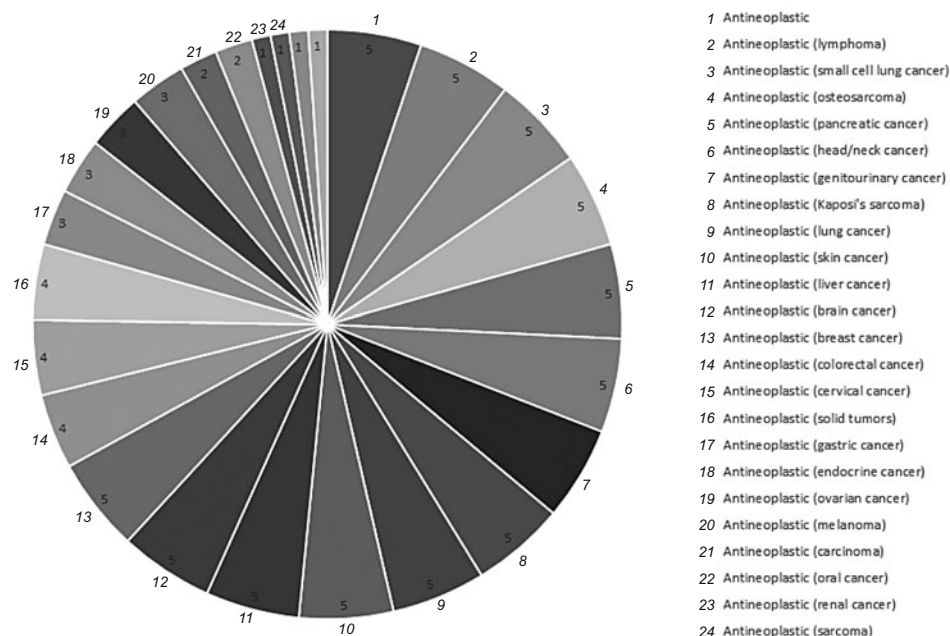


Рис. 3. Результаты оценки *in silico* противоопухолевого действия 5 идентифицированных фитокомпонентов родиолы розовой на различные виды опухолей (приведены данные прогноза PASS при пороге по вероятности наличия активности $P_a > 0,3$).

розиридин), для меланомы — для 3 из 5 фитокомпонентов (родионин, розавин и розарин), а для рака мочевого пузыря — только для родионина. Для салидрозиды с наиболее высокой вероятностью прогнозируется противоопухолевое действие по отношению к саркоме Капоши ($P_a = 0,69$), раку кожи ($P_a = 0,55$) и раку печени ($P_a = 0,46$). Для всех 5 фитокомпонентов с вероятностью $P_a > 0,7$ в качестве механизма противоопухолевого действия прогнозируется ингибирование транскрипционного фактора NF- κ B; с вероятностью $P_a > 0,5$ прогнозируются такие виды активности, как агонист апоптоза и антагонист целостности мембраны. Другие механизмы действия прогнозируются с меньшей вероятностью и не для всех 5 идентифицированных фитокомпонентов.

Таким образом, использование 5 идентифицированных фитокомпонентов родиолы розовой в комбинации позволяет примерно вдвое расширить спектр злокачественных новообразований, для терапии которых они могут быть использованы.

Заключение

Метод tandemной масс-спектрометрии ВЭЖХ/МС-МС был успешно применен для определения биологически активных веществ родиолы розовой *Rhodiola rosea* L. — фенолэтанолгликозида салидрозиды, фенолпропановидных гликозидов розавина и розарина, монотерпенового гликозида розиридина и флавоноида родионина — в качестве составляющих оригинальной фармакокомпозиции Мультифитоадаптоген.

Хроматограммы и спектры, полученные в ходе работы, могут быть использованы для стандартизации и идентификации фармакокомпозиции Мультифитоадаптоген.

Результаты также важны для обоснования биологической активности фармакокомпозиции Мультифитоадап-

тоген с учетом составляющих группы БАВ родиолы розовой.

Учитывая известную из литературы биологическую активность идентифицированных БАВ родиолы розовой, можно прогнозировать новые свойства фармакокомпозиции Мультифитоадаптоген. Вместе с тем на основе компьютерного прогноза показано, что противоопухолевый эффект с высокой вероятностью предсказывается для всех 5 фитокомпонентов; при этом их сочетанное действие расширяет примерно вдвое возможности их применения для лечения различных злокачественных новообразований. Все это может служить предметом будущих исследований.

В результате проведенной нами работы показана возможность стандартизации и идентификации комплексных фитопрепаратов, в состав которых входят биологически активные вещества родиолы розовой.

Благодарности. Работа выполнена при частичной поддержке грантов Комиссии по биомедицинским инновациям и технологиям Министерства науки Российской Федерации и Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021 – 2030 годы).

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. О. А. Бочарова, Р. В. Карпова, Е. В. Бочаров и др., *Рос. биотерапевт. журн.*, **19**(4), 22 – 31 (2020).
2. О. Н. Куренная, Р. В. Карпова, О. А. Бочарова и др., *Генетика*, **49**(12), 1364 (2013); *Russ. J. Genetics*, **49**(12), 1190 (2013).
3. O. A. Bocharova, V. B. Matveev, R. V. Karpova, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.*, **141**(5), 616 – 619 (2006).
4. O. A. Bocharova, M. M. Pozharitskaya, T. L. Chekalina, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.*, **138**(6), 578 – 583 (2004).

5. E. V. Bocharov, V. G. Kucheryanu, G. N. Kryzhanovsky, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.*, **141**(5), 560 (2006).
6. O. A. Bocharova, M. I. Davydov, A. A. Klimenkov, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.*, **148**(1), 82 (2009).
7. Е. В. Бочаров, О. А. Бочарова, Р. В. Карпова и др., *Рос. биотерапевт. журн.*, **17**(2), 69 (2018).
8. О. П. Шейченко, О. А. Бочарова, Б. А. Крапивкин и др., *Вопр. биол. мед. фарм. химии*, **10**, 52 (2012).
9. О. А. Бочарова, И. В. Казеев, В. Е. Шевченко и др., *Теор. основы хим. технол.*, **55**(6), 780 – 792 (2021).
10. И. В. Казеев, О. А. Бочарова, В. Е. Шевченко и др., *Теор. основы хим. технол.*, **54**(6), 733 – 737 (2020).
11. А. С. Саратиков, Е. А. Краснов, *Родиола розовая — ценное лекарственное растение: (золотой корень)*, Изд-во Томского ун-та, Томск (1987).
12. Г. Г. Запесочная, В. А. Куркин, *Химия природн. соедин.*, **6**, 723 – 727 (1982).
13. Г. Г. Запесочная, В. А. Куркин, *Химия природн. соедин.*, **1**, 23 – 32 (1983).
14. В. А. Куркин, Г. Г. Запесочная, А. Н. Щавлинский, *Химия природн. соедин.*, **5**, 632 – 636 (1985).
15. Y. Li, V. Pham, M. Bui, L. Song, *Curr. Pharmacol. Rep.*, **3**(6), 384 – 395 (2017); doi: 10.1007 / s40495-017-0106-1.
16. A. Panossian, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1401**(1), 49 – 64 (2017).
17. Z. L. Liang, X. Y. Zhang, F. Wang, et al., *Medicine (Baltimore)*, **97**(39), e11886 (2018); doi: 10.1097 / MD.00000000000011886.
18. A. Booker, B. Jalil, D. Frommenwiler, et al., *Phytomedicine*, **23**(7), 754 – 762 (2016); doi: 10.1016 / j.phymed.2015.10.006.
19. Y. C. Ma, X. Q. Wang, F. Hou, et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **55**(5), 908 – 915 (2011); doi: 10.1016 / j.jpba.2011.03.013.
20. В. А. Куркин, Т. К. Рязанова, *Хим.-фарм. журн.*, **55**(8), 40 – 44 (2021); *Pharm. Chem. J.*, **55**(8), 793 – 797 (2021).
21. A. Q. Sun, X. L. Ju, *J. Chin. Integr. Med.*, **27**(2), 153 – 160 (2021); doi: 10.1007 / s11655 – 020 – 3190 – 8.
22. L. Yang, Y. Yu, Q. Zhang, et al., *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.*, **47**(1), 3500 – 3510 (2019); doi: 10.1080 / 21691401.2019.1652626.
23. S. Y. Ding, M. T. Wang, D. F. Dai, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **527**(4), 1057 – 1063 (2020); doi: 10.1016 / j.bbrc.2020.05.066.
24. M. Ren, W. Xu, T. Xu, *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.*, **47**(1), 1014 – 1021 (2019); doi: 10.1080 / 21691401.2019.1584566.
25. A. S. Marchev, P. Dimitrova, I. K. Koycheva, *Food Chem. Toxicol.*, **108**(Part B), 419 – 428 (2017); doi: 10.1016 / j.fct.2017.02.009.
26. S. K. J. Magani, S. D. Mupparthi, B. P. Gollapalli, et al., *Curr. Drug Metab.*, **21**(7), 512 – 524 (2020); doi: 10.2174 / 1389200221666200610172105.
27. S. Sun, Q. Tuo, D. Li, et al., *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, **2020**, 9568647 (2020); doi: 10.1155 / 2020 / 9568647.
28. K. Khanna, K. P. Mishra, L. Ganju, et al., *Biomed. Pharmacother.*, **87**, 496 – 502 (2017); doi: 10.1016 / j.biopha.2016.12.132.
29. R. Li, J. Chen, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2019**, 9341018 (2019); doi: 10.1155 / 2019 / 9341018.
30. W. Zhou, K. Chen, Q. Lu, et al., *Chem. Biodivers.*, **17**(12), e2000652 (2020); doi: 10.1002 / cbdv.202000652.
31. L. Mácsai, Z. L. Datki, D. Csupor, et al., *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2018**, 3690683 (2018); doi: 10.1155 / 2018 / 3690683.
32. Е. В. Бочаров, О. А. Бочарова, Р. В. Карпова и др., *Рос. биотерапевт. журн.*, **17**(2), 69 – 78 (2018).
33. О. А. Bocharova, R. V. Karpova, E. V. Bocharov, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **159**(5), 655 – 657 (2015).
34. E. V. Bocharov, V. G. Kucheryanu, G. N. Kryzhanovskii, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **141**(5), 560 – 563 (2006); doi: 10.1007 / s10517-006-0220-2.
35. E. V. Bocharov, V. G. Kucheryanu, I. A. Ivanova-Smolenskaya, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **149**(6), 682 – 684 (2010).
36. Е. В. Бочаров, Р. В. Карпова, И. В. Казеев и др., *Пат. физиология и эксперим. терапия*, **57**(3), 55 – 58 (2013).
37. Р. В. Карпова, Е. В. Бочаров, И. В. Казеев и др., *Пат. физиология и эксперим. терапия*, **57**(4), 51 – 54 (2013).
38. О. А. Bocharova, M. I. Davydov, A. A. Klimenkov, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.*, **148**(1), 82 – 85 (2009).
39. О. А. Bocharova, R. V. Karpova, V. A. Golubeva, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.*, **128**(4), 1005 – 1008 (1999).
40. О. А. Бочарова, Р. В. Карпова, Е. В. Бочаров и др., *Рос. биотерапевт. журн.*, **19**(4), 35 – 44 (2020).
41. A. A. Lagunin, R. K. Goel, D. Y. Gawande, et al., *Nat. Prod. Rep.*, **31**(11), 1585 – 1611 (2014).
42. D. Y. Gawande, D. Druzhilovsky, R. C. Gupta, et al., *J. Ethnopharmacol.*, **202**(18), 97 – 102 (2017).
43. А. К. Уэйли, А. О. Понкратова, А. А. Орлова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **55**(3), 22 – 27 (2021); *Pharm. Chem. J.*, **55**(3), 253 – 258 (2021).

Поступила 21.12.21

POSSIBILITIES OF MULTIPHYTOADAPTOGENE STANDARDIZATION: ANALYSIS OF *RHODIOLA ROSEA* ROOTS FOR BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES BY TANDEM MASS SPECTROMETRY

O. A. Bocharova^{1*}, I. V. Kazeev¹, V. E. Shevchenko¹, O. P. Sheichenko², V. V. Poroikov³, E. V. Bocharov¹, R. V. Karpova¹, N. S. Ionov³, V. G. Kucheryanu⁴, V. S. Kosorukov¹, V. B. Matveev¹, and I. S. Stilidi¹

¹ N. N. Blokhin Russian Oncological Research Center, Moscow, 115478 Russia

² All-Russia Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR), Moscow, 1172816 Russia

³ V. N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, 119121 Russia

⁴ Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, 125315 Russia

* e-mail: imufarm@rambler.ru

Biologically active substances in the extracts of *Rhodiola rosea* L. (Crassulaceae) rhizomes and roots, as well as in the related “Multiphytoadaptogene” (MPA) pharmaceutical composition, were analyzed using tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). Chromatography was performed on the ACQUITY UPLC BEH C18 column in the gradient mode. A TSQ Vantage triple quadrupole mass spectrometer with electrospray ionization was used for the analysis of components. Salidroside, rosavin, rosarin, rosiridin and rhodionin were identified in MPA as well as in the extract of *Rhodiola rosea* rhizomes and roots. These results can be used for standardization, identification and quality control of phytocomplexes containing these compounds as well as for determining the mechanisms of MPA biological activity and studying its new properties taking into account the identified components. The *in-silico* antitumor activity spectrum of isolated compounds was estimated using the PASS computer software. The antitumor effect has been predicted with high probability for all five phytocomponents. Specificity of the action of individual compounds provides the opportunity of using their combination for the treatment of a broad spectrum of malignant neoplasms.

Keywords: *Rhodiola rosea* L.; HPLC-MS/MS; phytoadaptogenes; salidroside; rosavin; rosarin; rosiridin; rhodionin; antitumor activity; *in-silico* estimation.