

УДК 615.074

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА РАСТИТЕЛЬНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СБОРА МЕТОДОМ ГАЗО-ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

А.Н. Кузьменко*, Е.Б.Пашкова**, А.В.Пирогов**, Р.В. Разживин*, В.Ю. Решетняк*

(*Московская медицинская академия имени И.М.Сеченова, кафедра общей химии;

**Московский Государственный университет имени М.В.Ломоносова, кафедра аналитической химии; e-mail: kuzmenko.mma@mail.ru)

Исследован компонентный состав летучей фракции ацетонитрильных вытяжек растительного сбора, применяемого для лечения органов дыхания. Для каждого из видов лекарственных растений предложен набор веществ-маркеров, позволяющих стандартизовать растительное сырье и сбор на его основе методом газо-жидкостной хроматографии с хромато-масс-спектрометрическим детектированием.

Ключевые слова: газо-жидкостная хроматография с масс-селективным детектированием, лекарственные растения, стандартизация, растительное лекарственное сырье, растительные сборы.

В качестве объектов исследования мы выбрали 5 видов фармакопейных растений (ГФ XI) [1, 2]: эвкалипт прутовидный (*Eucalyptus viminalis* L.), мать-и-мачеха обыкновенная (*Tussilago farfara* L.), мята перечная (*Mentha piperita* L.), тимьян ползучий (чабрец) (*Thymus serpyllum* L.), алтей лекарственный (*Althaea officinalis* L.).

Для проверки подлинности сырья данных растений, согласно ГФ XI, используют микроскопический анализ (трава чабреца, листья мать-и-мачехи), качественные реакции на слизи (корни алтея), определяют суммарное содержание эфирного масла методом перегонки с водяным паром (листья мяты, листья эвкалипта). Все эти методы определения подлинности являются устаревшими и несовершенными, цветные реакции не являются специфичными для конкретного вида растительного сырья, количественно определяется только суммарное содержание веществ.

Препараты алтея обладают обволакивающими, защитными, смягчающими и противовоспалительными свойствами, оказывают отхаркивающее и некоторое обезболивающее действие. Их применяют при хронических бронхитах, трахеитах, ларингитах, бронхопневмониях и бронхиальной астме. Трава чабреца употребляется при простудных заболеваниях как средство, способствующее усилению секреции бронхов и более быстрому выделению мокроты, а также обладающее дезинфицирующими свойствами. Листья мать-и-мачехи применяют как отхаркивающее и мягчительное средство. Листья эвкалипта прутовидного

применяют при острых и хронических инфекционно-воспалительных заболеваниях различной локализации. Мятую перечную издавна применяют как антисептическое средство при воспалительных заболеваниях верхних дыхательных путей и стоматитах [3, 5, 6].

По литературным данным, корни алтея лекарственного содержат около 35% слизи, состоящей в основном из полисахаридов – пентозанов и гексозанов, расщепляющихся при гидролизе на галактозу, декстрозу и пентозу. Кроме того, корни содержат до 16% пектиновых веществ, до 37% крахмала, до 10% сахарозы, 2% аспарагина, 4% бетаина, 1,7% жирного масла. Листья и цветки содержат слизь и около 0,02% твердого эфирного масла.

Трава чабреца содержит свыше 1% эфирного масла, основным компонентом которого являются кристаллический тимол (до 35%) и жидкий карвакрол (до 20%). В незначительных количествах масло содержит терпены: цимол, борнеол, цингиберин, терпинен и терпинеол. В траве чабреца найдены тритерпены (урсоловая и олеаноловая кислоты), а также флавоноиды, дубильные вещества, горечи, минеральные соли. В зрелых семенах содержится 33,6% жирного масла. В их составе определены кислоты: пальмитиновая (2,6%), стеариновая (2,3%), олеиновая (11,4%), линолевая (20,9%) и линоленовая (62,8%) [4, 6].

В листьях мать-и-мачехи слизь является основным компонентом – до 8% (при ее гидролизе образуются глюкоза, галактоза, пентозы и уроновые кислоты). Листья и соцветия растений содержат горькие глико-

зиды (2,63%), тритерпеновые сапонины, органические кислоты (галловая, яблочная, винная, аскорбиновая), стеролы (ситостерин, стигмастерин и др.), а также флавоноиды (рутин, гиперозид), полисахариды (инулин, декстрин), каротиноиды, следы дубильных веществ и эфирных масел [3, 6].

Листья эвкалипта содержат эфирное масло, флавоноиды и дубильные вещества. По ГФ XI допускается содержание эфирного масла для цельного сырья эвкалипта шарикового не менее 2,5%, резаного – не менее 1,5%, а для эвкалипта прутовидного – не менее 1%. Содержание цинеола в эфирном масле эвкалипта шарикового должно быть не менее 60%, а эвкалипта прутовидного – не менее 45%. Эфирное масло имеет вид легкоподвижной прозрачной бесцветной или желтоватой жидкости с запахом цинеола [4, 6].

Листья мяты перечной содержат до 3% эфирного масла (по ГФ XI требуется не менее 1%), соцветия содержат 4–6%. Основная составная часть эфирного масла – 1-ментол (до 65%, но не менее 50% в свободном состоянии и в виде эфиров). Кроме ментола масло листьев содержит ментон, ментилацетат, пинен, лимонен, цинеол, пулегон, жасмон и другие моноциклические терпены [4–6].

Цель данной работы – изучение компонентного состава летучей фракции экстрактов отобранных растений методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, а также анализ полученных результатов для определения возможности выявления индикаторных веществ.

Экспериментальная часть

Пробоподготовка заключалась в следующем: флакон с полученным экстрактом помещали на 10 мин в ультразвуковую ванну-мешалку «*Canfir*» без нагрева. Затем отбирали 10 мл экстракта в пластиковую колбу для центрифугирования и центрифугировали в течение 2 мин на центрифуге «*Ohaus Split 16000 rpm*» при 16000 об/мин. Отбирали микродозатором 1 мл экстракта с поверхности для предотвращения попадания частиц сырья и помещали в барабан инжектора хромато-масс-спектрометра.

Работу проводили на газовом хроматографе «*Agilent Technologies 6850 Series II*». Детектор масс-селективный «*Agilent Technologies 5973 Network*». Условия хроматографирования: колонка «*Agilent Technologies HP-5MS*» длиной 30 м и внутренним диаметром 0,25 мм, температура колонки 30–240°C. Скорость подъема температуры 5°/мин; конечный изотермический участок 10 мин. Температура

испарителя 200°C. Температура инжектора 30°C; скорость газа-носителя (гелия) 1 мл/мин.

Результаты и их обсуждение

Компонентный состав летучей фракции алтея лекарственного представлен в табл. 1. Обращает на себя внимание наличие в экстракте алтея палюстрола, характерного для багульника болотного. Такие специфические соединения, как луплур и изооктилфталат, могут выступать в качестве индикаторных компонентов для данного вида сырья.

Компонентный состав летучей фракции мать-и-мачехи представлен в табл. 2. Специфическим веще-

Т а б л и ц а 1

Компонентный состав летучей фракции экстракта корней алтея (*Althaea officinalis*)

Соединение	Время удерживания, мин	Степень совпадения с библиотечным масс-спектром, %
Этилбензол	10,603	91
<i>n</i> -Ксилен	10,927	91
Палюстрол	31,684	91
Пальмитиновая кислота	40,107	97
α -Лимонен	42,898	89
Луплур	43,366	94
Стеариновая кислота	44,214	90
<i>n</i> -Крезол	49,631	92
Изооктил фталат	54,396	92

Т а б л и ц а 2

Компонентный состав летучей фракции экстракта листьев мать-и-мачехи (*Tussilago farfara L.*)

Соединение	Время удерживания, мин	Степень совпадения с библиотечным масс-спектром, %
Уксусная кислота	7,058	90
Анетол	24,692	97
Тетрадекан	27,483	94
Кариофиллен	28,042	91
β -Бисаболен	30,234	93
Каламенен	30,602	96
Дигидроактиндиолид	30,801	87
Спатуленол	31,911	93
Кариофиллен оксид	32,044	90
γ -Эудесмол	33,154	91
Гептадекан	34,541	90
Пальмитиновая кислота	40,103	98
Фитол	42,776	91
Линоленовая кислота	43,413	94
<i>транс</i> -Сквален	43,945	91
<i>n</i> -Крезол	49,620	98
Гептадекан	52,403	94
9-Метил-нонадекан	60,938	93

Т а б л и ц а 3

Компонентный состав летучей фракции экстракта листьев мяты перечной (*Mentha piperita L.*)

Соединение	Время удерживания, мин	Степень совпадения с библиотечным масс-спектром, %
Уксусная кислота	7,409	90
α -Туйен	12,924	93
α -Пинен	13,088	97
Камфен	13,514	97
β -Терпинен	14,534	91
Эвкалиптол	16,758	98
<i>цис</i> - β -Терпинеол	17,036	96
<i>транс</i> -ментон	20,475	98
Пулегон	21,980	97
Пиперитон	22,386	96
Изоэвгенол	26,517	93
β -Бурбонен	27,053	95
Кариофиллен	27,940	99
β -Кубебен	29,480	91
Гермакрен	29,593	96
1-этинил-1-метил-2,4- <i>бис</i> (1-метилэтинил)-циклогексан	30,183	93
Спатуленол	31,915	90
Додекановой кислоты метилэтиловый эфир	32,958	91
6-изопропенил-4,8а-диметил-1,2,3,5,6,7,8,8а-октагидро-нафталенол-2	35,155	89
Гексагидрофарнезил ацетон	37,617	91
Пальмитиновая кислота	40,115	98
Фитол	42,776	91
Линоленовая кислота	43,765	99
Сквален	44,172	90
<i>n</i> -Крезол	49,620	94
Тетракозан	55,533	98
Эйкозан	60,935	91

Т а б л и ц а 4

Компонентный состав летучей фракции экстракта листьев чабреца (*Thymus serpyllum L.*)

Соединение	Время удерживания, мин	Степень совпадения с библиотечным масс-спектром, %
Уксусная кислота	6,581	90
Линолоол	18,525	94
Гераниол	22,965	90
α -Цитраль	24,090	93
Гераневая кислота	26,646	87
Кариофиллен	28,042	99
Гермакрен	29,586	97
β -Кубебен	29,589	96
γ -Элемен	29,965	98
β -Бисаболен	30,226	96
Дигидроактиндиолид	30,809	94
1,6,10-додекатриен-3-ол, 3,7,11-триметил-,	31,528	91
Спатуленол	31,915	93
Кариофиллен оксид	32,044	91
Гептадекан	34,537	93
Миристиновая кислота	36,089	91
Эудесма-5,11(13)-диен-8,12-олид	38,868	93
Нафто(2,3- <i>b</i>)фуран-2(3H)-он, декагидро-8а-метил-3,5- <i>бис</i> (метилен)-,	39,716	98
Пальмитиновая кислота	40,122	98
Циклогексадекан	42,225	97
Фитол	42,772	94
Линолевая кислота	43,640	91
Линоленовая кислота	43,757	99
<i>n</i> -Крезол	49,624	94
Эйкозан	52,403	93
1,2-бензолдикарбоновой кислоты, моно (2-этилгексил) эфир	54,408	91
Тетракозан	55,533	91
Пентакозан	60,938	90
Геранил изобутират	62,936	91

Т а б л и ц а 5

Компонентный состав летучей фракции экстракта листьев эвкалипта (*Eucalyptus viminalis* Labill.)

Соединение	Время удерживания, мин	Степень совпадения с библиотечным масс-спектром, %
α -Пинен	12,955	96
Камфен	13,698	94
β -Пинен	14,773	94
α -Фелландрен	15,812	91
<i>o</i> -Цимен	16,539	92
Эвкалиптол	16,743	93
3-Карен	17,669	94
Фенхол	18,896	97
4-Терпинеол	21,393	96
<i>n</i> -Мент-1-ен-8-ол	21,820	90
Карвон	23,336	90
Карвакрол	25,060	95
<i>n</i> -Тимол	25,071	93
Изоэвгенол	26,459	93
α -Кубебен	26,826	99
Копаен	26,908	99
α -Гурьюнен	27,791	99
Кариофиллен	28,049	99
Аромандрен	28,444	99
Аллоаромандрен	28,558	99
Изоледен	29,363	91
γ -Кадинен	29,460	93
β -Эудесмен	29,726	99
γ -Мууролен	29,464	93
β -Неокловен	29,601	95
Эудесма-4(14),11-диен	29,722	98
Бициклогермакрен	29,961	93
α -Аморфен	30,383	97
Декагидроаромандрен	30,520	98
δ -Аморфен	30,598	93
Дигидроактиндиолит	30,793	95
Элемол	31,227	91
Эпиглобулол	31,489	96
Спатуленол	31,927	94
Глобулол	32,087	99
γ -Селинен	32,259	91
Ледол	32,275	98
γ -Эудесмол	33,165	97
4,4,8-триметилтрицикло [6,3,1,0(1,5)]додекан-2,9-диол	38,368	95
Пальмитиновая кислота	40,107	98
Фитол	42,780	91
Линоленовая кислота	43,398	93
<i>n</i> -Крезол	49,620	95
Гептакозан	52,399	91

ством для мать-и-мачехи является каламенен, гидропроизводное нафталина, встречающееся также в составе криптомерии японской (*Cryptomeria japonica* (L.f.) D. Don). В целом алтей и мать-и-мачеха не так богаты летучими соединениями (в литературе сведения об этих веществах отсутствуют), как мята и эвкалипт. Но найденные нами соединения являются потенциальными индикаторными компонентами данных лекарственных растений.

Компонентный состав летучей фракции мяты перечной представлен в табл. 3. Характерными для мяты

являются следующие терпеноиды: β -бурбонен, ментон (продукт окисления ментола), пиперитон, пулегон, туйон, β -терпинен, а также 1-этил-1-метил-2,4-бис(1-метил-этил)-циклогексан. Из производных нафталина встречается 6-изопропенил-4,8а-диметил-1,2,3,5,6,7,8,8а-октагидро-нафталенол-2, из производных предельных углеводородов – гексагидрофарнезил ацетон (производное пентадекана). Богатый компонентный состав мяты позволяет выбирать возможные «маркеры».

Компонентный состав летучей фракции чабреца представлен в табл. 4. В качестве специфических со-

Т а б л и ц а 6

Сравнение компонентного состава для всех исследованных растений

Вещество	Алтей	Мать-и-мачеха	Мята	Чабрец	Эвкалипт
β-бисаболен		+		+	
β-бурбонен			+		
Камфен			+		+
Карен					+
Кариофиллен		+	+	+	+
Кариофиллен оксид		+		+	
Карвон					+
(-)-α-Копаен					+
β-Кубебен			+	+	+
o-Цимен					+
exo-Фенхол					+
Фенхол					+
Элемол					+
Эвкалиптол			+		+
γ-Элемен				+	
D-Гермакрен				+	
Бициклогермакрен					+
α-Лимонен	+				
Транс-ментон			+		
β-Фелландрен					+
α-Пинен			+		+
Пиперитон			+		
Пулегон			+		
β-Терпинен			+		
цис-β-Терпинеол			+		+
Туйон			+		
n-Тимол					+
1,6-циклодекадиен, 1-метил-5-метилен-8-(1-метилэтил)-, [s-(E,E)]-			+		
Циклогексан, 1-этилен-1-метил-2,4-бис(1-метилэтиленил)-			+		
Эудесма-4(14),11-диен					+
Эудесма-5,11(13)-диен-8,12-олид				+	
4,4,8-Триметилтрицикло[6.3.1.0(1,5)]додекан-2,9-диола					+
n-Мент-1-ен-8-ол					+
производные нафталина					
α-Аморфен					+
o-Аморфен					+
γ-Кадинен					+
Каламенен		+			
β-Эудесмен					+
γ-Эудесмол		+			+
γ-Мууролен					+
γ-Селинен					+
6-изопропенил-4,8a-диметил-1,2,3,5,6,7,8,8a-октагидро-нафтален-2-ол			+		
Нафто(2,3-b)фуран-2(3H)-он, декагидро-8a-метил-3,5-бис(метилен)-, aR-3a.alpha.,4a.alpha.,8a.beta.,9a.alpha.				+	

Продолжение табл. 6

Вещество	Алтей	Мать-и-мачеха	Мята	Чабрец	Эвкалипт
производные azulena					
(-)-Аллоаромадендрен					+
Аромадендрен					+
Эпиглобулол					+
Глобулол					+
α -Гурьонен					+
Изоледен					+
Ледол					+
Палоэстрол	+				
Спатуленол		+	+	+	+
углеводороды и органические кислоты					
Уксусная кислота	+	+	+	+	
Гераневая кислота				+	
Геранил изобутират				+	
Гераниол				+	
Циклогексадекан				+	
Линолоол				+	
α -Цитраль				+	
<i>cis</i> -Неролидол				+	
Миристиновая кислота				+	
Гексагидрофарнезил ацетон			+		
Пальмитиновая кислота	+	+	+	+	+
Гептадекан		+		+	
Гептадекановая кислота		+			
Стеариновая кислота					+
Линолевая кислота	+	+		+	
Линоленовая кислота		+	+	+	+
Лупулур	+				
Фитол		+	+	+	+
<i>trans</i> -Сквален		+	+		
Нонадекан		+			
Додекановая кислота			+		
Эйкозан			+	+	+
Гептакозан					+
Пентакозан				+	
Тетракозан			+	+	
производные бензола					
Анетол		+			
Карвакрол					+
Изоэвгенол			+		+
<i>n</i> -Крезол	+	+	+	+	+
Изооктил фталат	+				
<i>o</i> -Ксилен	+				
6-гидрокси-4,2',3',4'-тетраметокси-1,1'-бифенил	+				
Этилбензол	+				
производные пирана					
2,3-дигидро-3,5-дигидрокси-6-метил-4Н-пиран-4-он		+			
производные фурана					
Дигидроактиндиолид		+		+	+

единений у чабреца можно отметить γ -элемен, d-гермакрен и эудесма-5,11(13)-диен-8,12-олид, относящиеся к терпеноидам. Из других классов соединений идентифицированы линолоол, α -цитраль, *цис*-неролидол и циклогексадекан, которые также могут выступать в роли «маркеров» конкретного вида растительного сырья.

Компонентный состав летучей фракции эвкалипта представлен в табл. 5. Экстракт эвкалипта содержит достаточно большой набор специфических компонентов: из класса терпеноидов – камфен, карен, карвон, копаен, *о*-цимен, фенхол, элемол, бициклогермакрен, β -фелландрен, *n*-тимол, эудесма-4(14), 11-диен и *n*-мент-1-ен-8-ол; из производных нафталина – γ -кадинен, β -эудесмен, γ -мууролен и γ -селинен; из производных азулена – глобулол, эпиглобулол, α -гурьюнен и изоледен; из производных бензола – карвакрол. Весьма длинный список летучих компонентов эвкалипта предоставляет возможность выбора наиболее подходящих «маркеров». В сводной табл. 6 представлены

полученные результаты по пяти видам растительного сырья. Необходимо отметить, что данное исследование проводилось для отдельных видов фармакопейного растительного сырья без соотнесения с возможным присутствием их в сборах. Как уже отмечалось нами [7], при выборе веществ-маркеров, если речь идет о стандартизации сборов, всегда следует руководствоваться составом конкретного сбора. Сочетание видов растительного сырья в разных комбинациях позволяет уделять особое внимание одним характерным веществам и пренебрегать другими. В частности, богатый терпеноидный состав мяты перечной предполагает особенно тщательный отбор веществ-маркеров, так как некоторые из терпеноидов встречаются во многих эфиромасличных растениях. То же касается эвкалипта и чабреца. Для алтея лекарственного в качестве характерных веществ предложены луплур и изооктилфталат.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд., доп. вып. 1. М., 1987.
2. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд., доп. вып. 2. М., 1989.
3. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям (фитотерапия). М., 1988.
4. Зорина А.Д., Фокина Г.А., Шаварда А.Л., Батюк А.М. Три-терпеноиды родов семейства *Lamiaceae* флоры России // Раст. ресурсы. 2002. № 3. С. 60.
5. Писарев Д.И., Денисенко О.Н. Состав эфирных масел хвои и плодов можжевельника длиннохвойного // Фармация. 2005. № 1. С. 25.
6. Путьрский И.Н., Прохоров В.Н. Универсальная энциклопедия лекарственных растений. М., 2000.
7. Кузьменко А.Н. Стандартизация растительного сбора методом газо-жидкостной хроматографии. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2009. 50. С. 278.

Поступила в редакцию 22.09.09

AN INVESTIGATION OF THE OFFICINAL HERBS MIXTURES COMPOSITION BY GAS-LIQUID-CHROMATOGRAPHY WITH MS-DETECTION

A.N. Kuzmenko, E.B. Pashkova, A.V. Pirogov, R.V. Razhivin, V.Yu. Reshetnyak

(I.M. Sechenov Moscow Medicine Academy; M.V. Lomonosov Moscow State University)

The five of officinal herbs were investigated by gas-liquid chromatography with mass-selective detector. These herbs are *Eucalyptus viminalis*, *Tussilago farfara*, *Mentha piperita*, *Thymus serpyllum* and *Althaea officinalis*. The specific substances were described. Naphtalene and azulene derivatives, terpenoids and benzene derivatives were among them.

Key words: *gas-liquid chromatography with mass-selective detector, officinal herbs, standartisation of the raw plant material and herb mixtures.*

Сведения об авторах: Кузьменко Алексей Николаевич – ст. преподаватель кафедры общей химии Московской медицинской академии имени И.М. Сеченова, канд. хим. наук (*kuzmenko.tma@mail.ru*); Пащикова Елена Борисовна – аспирант кафедры аналитической химии химического факультета МГУ; Пировов Андрей Владимирович – вед. науч. сотр. кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, докт. хим. наук; Разживин Роман Вячеславович – аспирант кафедры общей химии Московской медицинской академии имени И.М. Сеченова; Решетняк Владимир Юрьевич – профессор кафедры общей химии Московской медицинской академии имени И.М. Сеченова, докт. фарм. наук.