

УДК 615.074

СТАНДАРТИЗАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СБОРА МЕТОДОМ ГАЗО-ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

А.Н. Кузьменко

(Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, Москва; e-mail:
kuzmenko.mma@mail.ru)

Методом газожидкостной хроматографии с масс-селективным детектированием исследован компонентный состав летучей фракции ацетонитрильных вытяжек растительного сбора, обладающего антибактериальным действием, и отдельных видов сырья, входящих в него. Обоснован выбор характерных веществ-маркеров отдельных видов растительного сырья и предложена методика стандартизации сбора данным методом.

Ключевые слова: газожидкостная хроматография с масс-селективным детектированием, лекарственные растения, стандартизация растительного лекарственного сырья и растительных сборов.

Наша работа посвящена исследованию компонентного состава летучей фракции растительного сбора “Элекасол” (ОАО “Красногорсклексредства”), обладающего противовоспалительным действием, и соотношению его с присутствием отдельных видов сырья, входящих в состав данного сбора: корневища солодки (20%), листья шалфея (20%), листья эвкалипта (20%), цветки ноготков (20%), трава череды (10%), цветки ромашки (10%)*

Химический состав календулы изучен достаточно подробно, ее цветки содержат в качестве биологически активных веществ каротиноиды, стерины и тритерпеноиды [2]. Однако в статье Государственной фармакопеи XI издания на сырье «Цветки ноготков» отсутствуют разделы «Качественные реакции» и «Количественное определение». Тонкослойная хроматография и спектрофотометрическое определение флавоноидов в пересчете на рутин, рекомендуемые в работе [3], не являются достаточно специфичными методами. Нами в качестве надежных и весьма специфичных веществ при стандартизации данного вида сырья с использованием газожидкостной хроматографии (ГЖХ) предложены производные нафталина [4].

Сырье солодки методом ГЖХ почти не изучали. Для ромашки наиболее типичным соединением-маркером считается хамазулен [5], однако наши исследования показывают, что наличие этого соединения может подтверждать присутствие данного сырья лишь при его достаточно большом содержании в ра-

стительном сборе [6]. Для сырья череды литературных данных о стандартизации методом ГЖХ не обнаружено.

Перед нами стояла задача уточнить химический состав вышеперечисленных растений и найти характерные вещества-маркеры, позволяющие стандартизовать данный сбор методом ГЖХ с масс-селективным детектированием.

Экспериментальная часть

Экстракты растительного сырья получали методом ремацерации. Экстрагент (пятикратный объем) разделялся на порции. Вначале растительное сырье экстрагировали трехкратным объемом экстрагента (4 сут), после прессования экстракцию проводили однократным объемом экстрагента (2 сут), а затем в течение одних суток – оставшимся однократным объемом экстрагента.

Пробоподготовка заключалась в том, что флакон с полученным экстрактом помещали без нагрева в ультразвуковую ванну-мешалку “Canfup” на 10 мин. Затем отбирали 10 мл экстракта в пластиковую колбу и центрифугировали (центрифуга «Ohaus Split 16000 rpm» при 16000 об/мин, 2 мин); 1 мл экстракта отбирали микродозатором 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” с масс-селективным

*Листья шалфея и эвкалипта стандартизуются в Фармакопее последнего издания [1] по содержанию эфирного масла, однако его качественный состав при этом не уточняется, что может давать возможности для фальсификаций. Это же относится и к цветкам ромашки.

детектором “*Agilent Technologies 5973 Network*”. Разделение проводили на капиллярной колонке “*HP-5-MS*” длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0,25 мкм (“*Agilent Technologies*”, США). Хроматограммы регистрировали на персональном компьютере, используя программный пакет “*ChemStation*” (“*Agilent Technologies*”, США). Для идентификации соединений по масс-спектрам электронного удара использовали библиотеку масс-спектров “*NIST 2005®*”. Объем вводимой пробы составлял 1 мкл, температура инжектора – 200°C, скорость потока газа-носителя – 1мл/мин, газ-носитель – гелий. Градиент температуры: 35°C (3 мин), 35–220°C (5°/мин), 220°C (10 мин), 220–240°C (2°/мин), 240°C (5 мин), 35°C (5 мин). Температура детектора 200°C.

Результаты и их обсуждение

Прежде всего обращает на себя внимание то, что при стандартизации лекарственного растительного сырья и сборов с помощью метода ГЖХ сильно удерживаемые вещества, например фитол и стеариновая кислота, не могут считаться специфическими веществами-маркерами, так как присутствуют в составе практически всех растений. Поэтому основное внимание было сосредоточено на оптимизации хроматографического определения веществ с меньшим временем удерживания, относящихся к разным классам.

Среди веществ-маркеров выделяются по своему многообразию и информативности терпены и терпеноиды, производные нафталина (характерны, в частности, для сырья ноготков), производные азулена и фурана [7]. Считается, что ряд известных маркеров принадлежит лишь какому-то одному виду сырья, однако наши исследования [8] показывают, что это не так. К таким маркерам традиционно относят ледол (присутствует в багульнике *Ledum palustre*), хамазулен (характерен для ромашки *Matricaria chamomilla*), эвкалиптол (цинеол) и анетол (эвкалипт и анис соответственно). Указанные вещества являются доминирующими в составе данных растений, однако это не значит, что их наличие в составе других видов растительного сырья и в составе сборов будет неинформативным. Так, в частности, в настоящем исследовании ледол послужил индикатором для эвкалипта. Компонентный состав летучей фракции ацетонитрильной вытяжки исследуемого сбора представлен

в таблице. Все три терпеноида (эвкалиптол, туйон и камфора) присутствуют в сырье шалфея, при этом эвкалиптол присутствует также и в листьях эвкалипта. При этом камфору нельзя считать маркером лишь для шалфея. В работе [4], где исследовался сбор, содержащий, среди прочих видов сырья, тысячелистник и душицу, камфора предлагалась в качестве надежного маркера для сырья тысячелистника. Таким образом, 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 то время как при других сочетаниях эти роли могут поменяться.

Типичный вид хроматограммы вытяжки на основе ацетонитрила представлен на рисунке. Ледол, который в нашем исследовании выступает как маркер эвкалипта, селективно разделяется при данных хроматографических условиях со своим стереоизомером глобулолом. Производные нафталина (α -эудесмол и декагидро-, α , α , 4 α -триметил-8-метил-2-нафталинметанол) выступают в качестве индикаторов для календулы.

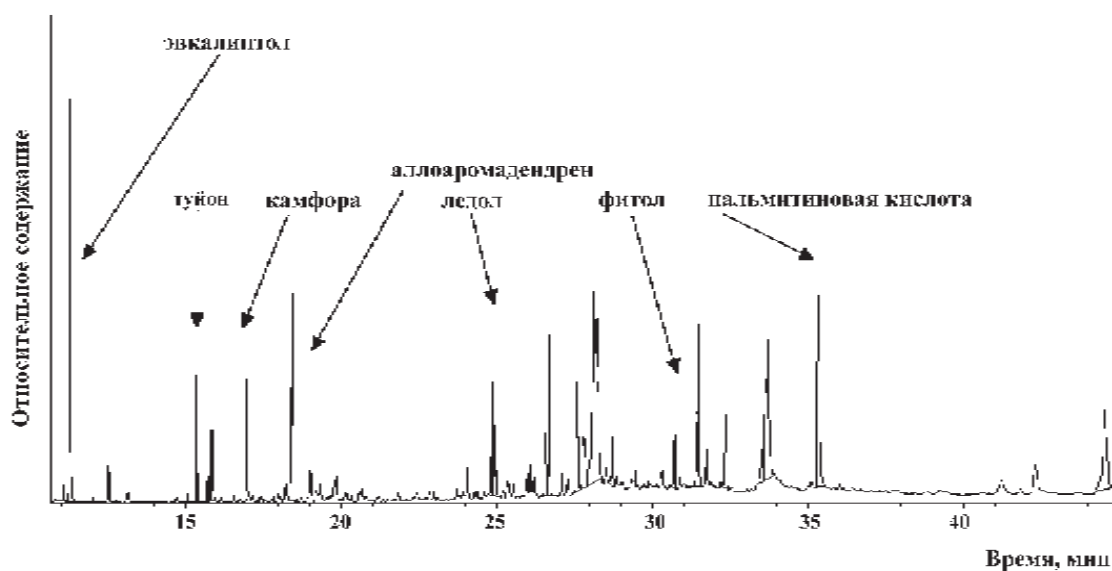
Сырье череды не показало наличия характерных веществ. Возможно, что это сырье можно стандартизовать по специфическому содержанию карбоновых кислот методом ионо-эксклюзионной хроматографии [9].

Что касается типичных веществ для сырья корневищ солодки, то их определение отличается невысокой воспроизводимостью, скорее всего, из-за низкого содержания в сырье. Однако в [4] при анализе многокомпонентного сбора, сырье солодки показало наличие таких специфических маркеров, как 1,3-циклогексадиен, 5-(1,5-диметил-4-гексенил)-2-метил-, туйен, α -аморфен (производное нафталина), анетол (производное бензола), 2,3-бутандиол. Наличие анетола, считающегося основным компонентом эфирного масла ряда растений семейства *Apiaceae*, представляет особый интерес, поскольку, оптимизируя хроматографические условия, можно добиться стандартизации сборов, содержащих и этот вид сырья.

В целом метод ГЖХ с масс-селективным детектированием показал себя как перспективный для внедрения в методики стандартизации лекарственных растительных сборов и сырья.

Компонентный состав растительного сбора "Элекасол"

Соединение	Время удерживания, мин	Степень совпадения с библиотечным масс-спектром, %
Эвкалиптол	11,325	99
Туйон	15,381	85
Уксусная кислота	15,846	91
Камфора	16,989	98
Аллоаромадендрен	18,444	98
Ледол	24,861	94
α -Эудесмол	26,560	97
2-нафталинметанол, декагидро, α , α , 4a-триметил-8-метилен	26,672	94
Глицерин	27,587	83
9,12,15-Октадекатриеналь	27,789	91
Метилловый эфир 9,12,15-октадекатриеновой кислоты	28,123	91
Фитол	30,717	91
Пальмитиновая кислота	35,339	99



Типичная хроматограмма ацетонитрильной вытяжки растительного сбора "Элекасол"

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2 Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. М., 1989.
2. Коновалова О.А., Рыбалко К.С. // Растительные ресурсы. 1990. **26**. № 3. С. 448.
3. Куркин А.В., Шарова О.В. // Фармация. 2007. № 8. С. 11.
4. Доброхотов Д.А., Кузьменко А.Н., Нестерова О.В., Разживин Р.В., Решетняк В.Ю., Попков В.А. // Сб. «Материалы IV Российской научно-практической конференции. Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными природными ресурсами и создания функциональных продуктов». 4-5 июня 2007. М., С. 103.
5. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология. М., 2000.
6. Кузьменко А.Н. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2 Химия. 2008. **49**. С. 209.
7. Разживин Р.В., Кузьменко А.Н., Решетняк В.Ю., Нестерова О.В., Попков В.А. // Сб. науч. тр. «Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты». М., 2007. Т. 15. С. 100.
8. Разживин Р.В., Кузьменко А.Н., Решетняк В.Ю., Нестерова О.В., Попков В.А. // Хим. технология 2008. **9**. № 8. С. 408.
9. Кузьменко А.Н., Попков В.А. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2007. № 4. С. 55.

Поступила в редакцию 12.12.08

STANDARTISATION OF THE OFFICIAL HERB MIXTURE BY GAS-LIQUID-CHROMATOGRAPHY

A.N. Kuzmenko

(I. M. Sechenov Moscow Medicine Academy)

The antibacterial herb mixture was investigated by gas-liquid chromatography with mass-selective detector. The mixture consists of *Matricaria chamomilla* (flores), *Bidens tripartite* (folia), *Calendula officinalis* (flores), *Salvia officinalis* (folia), *Eucalyptus globulus* (folia), *Glycyrrhiza glabra* (radices). The specific substances were described. Terpenoids for *Salvia*, eucalyptol and ledol for *Eucalyptus*, naphthalene derivatives for *Calendula*, 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 авторе: Кузьменко Алексей Николаевич – ст. преподаватель кафедры общей химии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, канд. хим. наук (Kuzmenko.mma@mail.ru).