

УДК 615.074

ПРИМЕНЕНИЕ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ФАРМАКОПЕЙНЫХ ВИДОВ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Р.В. Разживин, В.Ю. Решетняк, А.Н. Кузьменко, О.В. Нестерова, В.А. Попков

(Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова; e-mail: biotma@mail.ru)

Исследован компонентный состав летучей фракции экстрактов фармакопейных видов лекарственного растительного сырья методом хромато-масс-спектрометрии с целью выявления специфических соединений, присущих конкретному растению. Проанализировано 40 фармакопейных видов лекарственного растительного сырья. Показано, что 14 из них содержат специфические летучие соединения (маркеры), позволяющие проводить однозначную идентификацию.

Ключевые слова: хроматография, растительное сырье, маркеры.

Хромато-масс-спектрометрия является одним из наиболее удобных методов идентификации сложных смесей летучих соединений, однако данный метод практически не применяется для изучения экстрактов лекарственного растительного сырья. Цель нашей работы состояла в исследовании компонентного состава летучей фракции экстрактов фармакопейных видов лекарственного растительного сырья методом хромато-масс-спектрометрии для выявления специфических соединений, присущих конкретному растению.

Экспериментальная часть

В качестве объектов для исследования нами были выбраны фармакопейные виды лекарственного растительного сырья [1], соответствующие сорока видам растений.

Аир болотный (корневища) Acorus calamus L., Araceae; алтей лекарственный (корень) Althaea officinalis L., Malvaceae; анис обыкновенный (плоды) Anisum vulgare L., Apiaceae; багульник болотный (побеги) Ledum palustre L., Ericaceae; береза повислая (почки) Betula pendula L., Betulaceae; бессмертник песчаный (цветки) Helichrysum arenarium L., Asteraceae; боярышник кроваво-красный (цветки) Crataegus sanguinea L., Rosaceae; бузина черная (цветки) Sambucus nigra L., Caprifoliaceae; валериана лекарственная (корневища с корнями) Valeriana officinalis L., Valerianaceae; девясил высокий (корневища и корни) Inula helenium L., Asteraceae; донник лекарственный (трава) Mililotus officinalis L., Fabaceae; дуб обыкновенный (кора) Quercus robur L., Fagaceae; душица обыкновенная (трава) Origanum vulgare L., Lamiaceae; зверобой продырявленный (трава) Hypericum perforatum L., Hyperitaceae; календула лекарственная (цветки) Calendula officinalis L., Asteraceae; кориандр посевной (плоды) Cariandrum sativum L., Apiaceae; кровохлебка лекарственная (корневища и корни) Sanguisorba officinalis L., Rosaceae; ланчатка прямостоячая (корневища) Tormentilla erecta L., Rosaceae; липа сердцевидная (цветки) Tilia cordata Mill., Tiliaceae; мать-и-мачеха (листья) Tussilago farfara L., Asteraceae; мелissa лекарственная (трава) Melissa officinalis L., Lamiaceae; мята перечная (листья) Mentha piperita L., Lamiaceae; пижма обыкновенная (цветки) Tanacetum vulgareae L., Asteraceae; полынь горькая (трава) Artemisia absinthium L., Asteraceae; пустырник сердечный (трава) Leonurus cardiaca L., Lamiaceae; ромашка аптечная (цветки) Matricaria recutita L., Asteraceae; солодка голая (корень) Glycyrrhiza glabra L., Fabaceae; сосна обыкновенная (почки) Pinus silvestris L., Pinaceae; тмин обыкновенный (плоды) Carum carvi L., Apiaceae; тысячелистник обыкновенный (трава) Achillea millefolium L., Asteraceae; укроп пахучий (плоды) Anethum graveolens L., Apiaceae; фенхель обыкновенный (плоды) Foeniculum vulgare L., Apiaceae; фиалка трехцветная (трава) Viola tricolor L., Violaceae; хвощ полевой (трава) Equisetum arvense L., Equisetaceae; хмель (шишки) Humulus lupulus L., Cannabaceae;

венный (трава) Tormentilla erecta L., Rosaceae; липа сердцевидная (цветки) Tilia cordata Mill., Tiliaceae; мать-и-мачеха (листья) Tussilago farfara L., Asteraceae; мелissa лекарственная (трава) Melissa officinalis L., Lamiaceae; мята перечная (листья) Mentha piperita L., Lamiaceae; пижма обыкновенная (цветки) Tanacetum vulgareae L., Asteraceae; полынь горькая (трава) Artemisia absinthium L., Asteraceae; пустырник сердечный (трава) Leonurus cardiaca L., Lamiaceae; ромашка аптечная (цветки) Matricaria recutita L., Asteraceae; солодка голая (корень) Glycyrrhiza glabra L., Fabaceae; сосна обыкновенная (почки) Pinus silvestris L., Pinaceae; тмин обыкновенный (плоды) Carum carvi L., Apiaceae; тысячелистник обыкновенный (трава) Achillea millefolium L., Asteraceae; укроп пахучий (плоды) Anethum graveolens L., Apiaceae; фенхель обыкновенный (плоды) Foeniculum vulgare L., Apiaceae; фиалка трехцветная (трава) Viola tricolor L., Violaceae; хвощ полевой (трава) Equisetum arvense L., Equisetaceae; хмель (шишки) Humulus lupulus L., Cannabaceae;

чабрец (тимьян ползучий) (трава) *Thymus serpyllum* L., *Lamiaceae*; череда трехраздельная (трава) *Bidens tripartite* L., *Asteraceae*; черника обыкновенная (плоды) *Vaccinium myrtillus* L., *Vaccinaceae*; шалфей лекарственный (трава) *Salvia officinalis* L., *Lamiaceae*; эвкалипт прутовидный (листья) *Eucalyptus viminalis* L., *Myrtaceae*.

Экстракты растительного сырья получали методом дробной мацерации (ремацерации) в модификации, предусматривающей эпизодическое изменение разности концентраций на границе раздела фаз за счет обновления экстрагента [7]. В сумме время экстракции составляло 7 сут, количество экстрагента – 5 объемов.

Для исследования состава летучей фракции экстракта перед началом измерений проводили следующую пробоподготовку. Флакон с экстрактом помещали в ультразвуковую ванну-мешалку “*Canpur*” на 10 мин без нагрева, затем отбирали в пластиковую колбу 10 мл экстракта и обрабатывали на центрифуге “*Ohaus Split*” при 16000 об/мин в течение 2 мин. Для предотвращения попадания частиц сырья с поверхности полученного образца микродозатором отбирали 1 мл экстракта и помещали в барабан инжектора хромато-масс-спектрометра. Исследование полученных экстрактов проводили на двух газовых хроматографах с масс-селективными детекторами двух разных производителей: “*Agilent Technologies 6850 Series II*”, детектор масс-селективный “*Agilent Technologies 5973 Network*”, колонка капиллярная “*HP-5MS Fisons GC8000*” (30×0,25); детектор масс-селективный “*Fisons MD800 MS*”, колонка капиллярная “*DB-5MS*” (30×0,25). Ввод пробы осуществляли автоматически [2].

При проведении измерений использовали программируемое изменение температуры и параметров, обеспечивающее наилучшее разделение исследуемых экстрактов и идентификацию химических соединений [4]. Измерения проводили при определенных условиях. Температура колонки: начальный изотермический участок 35°C (5 мин), подъем температуры со скоростью 2°C/мин от 35 до 100°C, подъем температуры со скоростью 5°C/мин от 100 до 200°C, подъем температуры со скоростью 10°C/мин от 200 до 250°C, конечный изотермический участок 250°C (15 мин). Температура испарителя 200°C. Температура инжектора 300°C. Температура источника ионов 250°C. Скорость газа-носителя (гелия) 1 мл/мин.

В ряде случаев условия измерений меняли. Температура колонки: начальный изотермический участок 40°C (5 мин), подъем температуры со скоростью 10°C/мин от 40 до 280°C, конечный изотермический участок 280°C (15 мин). Температура испарителя 300°C. Температура инжектора 300°C. Температура источника ионов 250°C. Скорость газа-носителя (гелия) 1 мл/мин. Анализ полученных данных проводили с помощью специализированного программного обеспечения, встроенного в каждый хромато-масс-спектрометр.

Результаты и их обсуждение

В настоящей работе проведены исследования 40 различных экстрактов лекарственного растительного сырья. Для устранения случайных ошибок экстракты готовили из 3 независимых партий каждого вида растений. В результате проведенных исследований установлено, что только 14 из 40 лекарственных растений содержат специфические летучие соединения, позволяющие однозначно их идентифицировать. Полученные результаты представлены в таблице.

Корневища аира (*rhizomata acori*) содержат богатый набор летучих компонентов из которых только 3 являются специфическими для данного растения (изолонгифолен, β-кедрен, α-кедренол). Изолонгифолен представляет собой гидропроизводное нафталина, упоминаний о котором не удалось найти в литературе по данной тематике [6]. β-Кедрен и α-кедренол являются производными азулена и несмотря на их название не содержатся ни в одном из видов кедра.

При анализе экстрактов плодов аниса (*fructus anisi*) помимо типичных для данного растения анетола и анисового кетона было найдено соединение, которое может выступать в качестве маркера – α-хи-махален, представляющее собой сложное производное бензоциклогептена.

Из всего многообразия летучих компонентов почек березы (*gemmae betulae*) удалось выделить только одно специфическое соединение – лонгигицилин, представляющий собой производное азулена.

Экстракт корневищ с корнями валерианы (*rhizomata cum radicibus valerianae*) содержит широкий спектр соединений, из числа которых можно выделить несколько специфических – гвайол, валеранон и 1,2,3,4-тетрагидроквинальдин. Все три соединения могут выступать в качестве маркеров, они относятся к разным классам веществ: гвайол – производное азуленметанола, валеранон – производное нафталенона, а 1,2,3,4-тетрагидроквинальдин – производное квинолина.

Специфические летучие продукты исследованных видов лекарственного растительного сырья

Растительное сырье	Соединение	Класс
Корневища аира (<i>rhizomata calami</i>)	изолонгифолен	производное нафталина
	β -кедрен	производное азулена
	α -кедренол	производное азулена
Плоды аниса (<i>fructus anisi</i>)	α -химахален	производное бензоциклопентена
Почки березы (<i>gemmae betulae</i>)	лонгициклин	производное азулена
Корневища с корнями валерианы (<i>rhizomata cum radicibus valerianae</i>)	гвайол	производное азуленметанола
	1,2,3,4-тетрагидроквинальдин	производное квинолина
	валеранон	производное нафталенона
Трава донника (<i>herba mililoti</i>)	гидрокумарин	производное кумарина
Цветки липы (<i>flores tiliae</i>)	β -патчулен	производное метаноазулена
Трава Melissa (<i>herba melissae</i>)	нео-изопулегол	терпеноид
Трава мяты (<i>folia menthae</i>)	(-)-пиперитон (-)-пулегон	терпеноиды
Цветки ромашки	айапанин	производное кумарина
Почки сосны (<i>gemmae pini</i>)	эукарвон	производное циклогептана
	α -диметилстирен	производное бензола
Трава фиалки (<i>herba violae</i>)	анальгит	производное бензойной кислоты
Трава шалфея (<i>folia salviae</i>)	4-винилгвайакол	производное фенола
Трава чабреца (<i>herba thymi serpylli</i>)	цис-неролидол	производное додекатриена
Листья эвкалипта (<i>folia eucalypti</i>)	эпиглобулол	производное азулена

Трава донника (*herba mililoti*) обладает весьма скудным составом летучих компонентов, однако и для этого растения удалось выявить специфическое соединение – производное кумарина (3,4-дигидрокумарин).

Цветки липы (*flores tiliae*) также небогаты летучими соединениями. Обращает на себя внимание наличие лишь одного специфического компонента – β -патчулена, производного метаноазулена.

Компонентный состав травы Melissa (*herba melissae*) представлен весьма широко как терпеновыми соединениями, так и органическими кислотами и их производными. Особый интерес вызывает присутствие довольно редкого терпеноида – нео-изопулего-

ла, который смело можно использовать в качестве маркерного соединения.

Неудивительно, что больше всего летучих компонентов содержится в экстракте из листьев мяты (*folia menthae*). Мята перечная – основной растительный источник получения ментола, однако этот терпен содержат еще свыше сорока видов растений. Поэтому в качестве маркеров нами предложены два других терпеноида, обнаруженных только в мяте. Это пулегон(-)- и пиперитон(-)-, являющиеся изомерными формами друг друга. При анализе экстракта цветков ромашки (*flores chamomillae*) было обнаружено специфическое соединение айапанин, представляющее собой сложное производное кумарина.

Интересно, что по компонентному составу экстракт почек сосны (*gemmae pini*) не уступает даже мяте. Можно выделить два специфических компонента – эукарвон (производное циклогептана) и α -диметилстирен (производное бензола).

Экстракт травы фиалки (*herba violae*) оказался небогат летучими компонентами. В качестве маркера можно использовать анальгит, являющийся производным бензойной кислоты. В листьях шалфея (*folia salviae*) был определен достаточно широкий спектр летучих компонентов, из которых выделяется один специфический – 4-винилгвайакол, представляющий собой производное фенола.

Анализ летучих компонентов травы чабреца (*herba thymi serpylli*) показал наличие широкого

спектра соединений, относящихся к разным химическим классам. Здесь также удалось выявить специфический компонент – цис-неролидол.

Экстракт листьев эвкалипта (*folia eucalypti*) содержит богатый набор компонентов, однако обращает на себя внимание наличие одного специфического соединения – эпиглобулола, представляющего собой сложное производное азулена.

При анализе компонентного состава остальных видов растительного сырья не удалось обнаружить специфических индикаторных соединений. Дальнейшие исследования в этом направлении могут привести к созданию метода идентификации отдельных видов растительного сырья, в том числе в составе комплексных сборов, фиточаев и других фитопрепаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. М., 1989.
2. Полякова А.А., Хмельницкий Р.А. Масс-спектрометрия в органической химии. Л., 1972.
3. Джумаев Х.К., Ткаченко К.Г., Зенкевич И.Г. // Растительные ресурсы. 1989. 25. Вып. 2. С. 238.
4. Макаров В.Г., Краснов К.А., Тюкавкина Н.А., Руленко И.А. // Фармация 1996. 5. № 10. С. 33.
5. Доброхотов Д.А., Нестерова О.В., Разживин Р.В., Кузьменко А.Н. // Фармацевтический вестник Узбекистана. 2007. № 2. С. 19.
6. Путьрский И.Н., Прохоров В.Н. Универсальная энциклопедия лекарственных растений. М., 2000.
7. Домарецкий В.А. Технология экстрактов, концентратов и напитков из растительного сырья. М., 2007.

Поступила в редакцию 20.06.08

CHROMATO-MASS SPECTROMETRIC STUDYING OF THE STRUCTURES OF THE PHARMACOPOEAN KINDS OF MEDICINAL VEGETATIVE RAW MATERIALS.

R.V. Razhivin, V.Y. Reshetniak, A.N. Kusmenko, O.V. Nesterova, V.A. Popkov

(I.M. Sechenov Moscow Medical academy, Moscow, Russia)

The structure of extracts of the pharmacopoean kinds of raw materials is investigated by gas chromat-mass spectrometry for revealing of the specific markers inherent in a concrete plant. It is analysed 40 pharmacopoean raw materials kinds. It is shown that 14 from them contain the specific markers, allowing to spend unequivocal identification. The received results can be used in kontrol-analytical laboratory

Key words: chromatography, raw material (plants), markers.

Сведения об авторах: Разживин Роман Вячеславович – аспирант кафедры общей химии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова (biomma@mail.ru); Решетняк Владимир Юрьевич – профессор кафедры общей химии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, доктор фармацевтических наук (biomma@mail.ru); Кузьменко Алексей Николаевич – ст. преподаватель кафедры общей химии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, канд. хим. наук (Kuzmenko.mma@mail.ru); Нестерова Ольга владимировна – профессор кафедры общей химии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, доктор фармацевтических наук (biomma@mail.ru); Попков Владимир Андреевич – зав. кафедрой общей химии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, доктор фармацевтических наук, доктор педагогических наук, академик РАО (biomma@mail.ru).