УДК 615.322:582.949.27:581.45:547.455:547.466

О. М. Семенченко, О. О. Цуркан, О. А. Корабльова

Дослідження вмісту органічних кислот у траві деяких видів шавлії за допомогою високоефективних інструментальних методів аналізу

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: органічні кислоти, метод газової хроматографії з мас-детектуванням, рідинна хроматографія, шавлія кільчаста, шавлія відхилена, шавлія лікарська

Хроматографічні методи дослідження знаходять все більше застосування у фармацевтичній практиці завдяки точності, високій відтворюваності, простоті пробопідготовки. Ці переваги виявляються незамінними при контролі якості та стандартизації рослинних лікарських препаратів різних форм. Серед хроматографічних методів високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) [1] та газова хроматографія з мас-детектуванням [2] є найефективнішими для визначення слабких органічних кислот [3].

Відомо, що органічні кислоти відіграють важливу роль в обміні речовин рослин. Вони є проміжними продуктами оксидації вуглеводів, жирів, амінокислот і білків, а також використовуються в синтезі амінокислот, алкалоїдів, стероїдів і, у такий спосіб, є проміжною ланкою між обміном вуглеводів, жирів, білків тощо. Органічні кислоти мають широкий спектр біологічної дії на організм людини.

Мета роботи – дослідження якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот у траві шавлії кільчастої, шавлії відхиленої та шавлії лікарської методами рідинної хроматографії та газової хроматографії/мас-спектрометрії (ГХ/МС).

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження були трава шавлії кільчастої, трава шавлії відхиленої та трава шавлії лікарської, заготовлені в червні 2012 року в фазу масового цвітіння в Національному ботанічному саду імені М. М. Гришка, м. Київ.

Дослідження органічних кислот проводили на рідинному хроматографі фірми «Agilent Technologies» (модель 1100), обладнаному діодно-матричним детектором, з використанням колонки Synergi Hydro-RP. Хроматографування проводили при довжині хвилі 210 нм, швидкості потоку 1,0 мл/хв та температурі термостату колонки 20 °С. Об'єм проби, що уводився, – 25 мкл. Як рухому фазу А використовували ацетонітрил, фазу В – 0,006 М трифторацетову кислоту pH 2,35 у режимі градієнтного елюювання. Умови градієнтного режиму наведено нижче.

Для порівняння використовували розчини фармакопейних стандартних зразків органічних кислот.

Екстракцію повітряно-сухої сировини проводили за допомогою води дистильованої, а саме: до 0,3 г сировини додавали 10 мл води дистильованої, гомогенізували на гомогенізаторі протягом 20 хв, фільтрували через паперовий фільтр «синя стрічка».

Час, хв	Рухома фаза А, % (об/об)	Рухома фаза В, % (об/об)
0→8	100	0
8→25	100→60	0→40
25→28	60→10	40→0
28→35	100	0

© Колектив авторів, 2013

Паралельно дослідження вмісту органічних кислот проводили за допомогою газової хроматографії з мас-детектуванням. Для цього одержували метилові ефіри органічних кислот за допомогою метилюючого агента (14 % трихлорид бору (BCl3) у метанолі, Supelco 3-3033). Як внутрішній стандарт використовували тридекан.

Хімічний склад проби аналізували на хромато-мас-спектрометрі Hewlett Packard HP-6890 з мас-селективним детектором HP-5972. Розділення компонентів суміші проводили з використанням капілярної колонки HP-INNOWAX (нерухома фаза – поліетиленгліколь) – 30 м × 0,25 мм × × 0,25 мкм, швидкість потоку газуносія – 1,2 мл/хв. Об'єм проби, що уводився, становив 2 мкл в режимі splitless, тобто без розділення потоку. Температура інжектора – 250 °С. Температуру термостата програмували від 50 °С до 250 °С зі швидкістю 4 °С/хв.

Для ідентифікації компонентів використовували дані бібліотеки мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007 з загальною кількістю спектрів понад 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS та NIST. Вміст сполук розраховували відносно внутрішнього стандарту.

Результати та їх обговорення. Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот методом рідинної хроматографії в траві шавлії кільчастої, шавлії відхиленої та шавлії лікарської наведено в таблиці 1.

У результаті досліджень встановлено наявність 5 органічних кислот у траві шавлії відхиленої та шавлії лікарської з найбільшим відсотковим вмістом фумарової, щавлевої та яблучної кислот – 40,50 %, 20,37 % та 13,96 % відповідно. У траві шавлії кільчастої встановлено наявність 4 органічних кислот, з яких найбільший вміст становила щавлева кислота – 12,56 %.

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот методом газової хроматографії з мас-детектуванням у траві шавлії кільчастої, шавлії відхиленої та шавлії лікарської наведено в таблиці 2.

У результаті досліджень встановлена наявність 23 органічних кислот у траві шавлії відхиленої, домінуючими є фумарова, щавлева, малонова та яблучна кислоти – 36,50 %, 17,29 %, 12,33 % та 10,45 % відповідно. У траві шавлії лікарської встановлена наявність 17 органічних кислот, з найбільшим умістом лимонної, яблучної та малонової кислот. Найменшу кількість органічних кислот ідентифіковано та кількісно визначено в траві шавлії відхиленої, а саме: 16 органічних кислот, домінуючими з яких є лимонна, яблучна та щавлева кислоти – 31,21 %, 20,79 % та 11,44 % відповідно.

Проведені дослідження вказують на високу кореляцію одержаних результатів методом рідинної хроматографії та методом газової хроматографії з мас-детектуванням, що свідчить про точність обох методик та про можливість їхньої взаємозамінності при визначенні якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот у траві шавлії кільчастої, шавлії відхиленої та шавлії лікарської.

Таблиця 1

Якісний склад та кількісний вміст органічних кислот у траві досліджуваних видів шавлії (рідинна хроматографія)

№	Час утримування піків, хв	Назва компонента	Уміст органічних кислот в перерахунку на суху сировину, %		
			Шавлія відхилена	Шавлія кільчаста	Шавлія лікарська
1	3,86	щавлева кислота	20,37	12,56	5,42
2	5,15	яблучна кислота	13,96	2,77	4,29
3	10,35	фумарова кислота	40,50	2,53	0,83
4	26,52	бензойна кислота	0,25	-	0,20
5	27,91	саліцилова кислота	0,13	0,02	0,04

Таблиця 2

Якісний склад та кількісний вміст органічних кислот у траві досліджуваних видів шавлії (газова хроматографія з мас-детектуванням)

№	Час утримування піків, хв	Назва компонента	Вміст органічних кислот, %		
			шавлія відхилена	шавлія кільчаста	шавлія лікарська
1	4,80	капронова кислота	0,19	-	0,43
2	6,10	3-гексенова кислота	0,48	-	-
3	6,74	2-гексенова кислота	0,77	-	-
4	9,35	щавлева кислота	17,29	11,44	5,17
5	11,60	малонова кислота	12,33	8,19	23,02
6	12,43	фумарова кислота	36,50	0,54	6,43
7	13,41	бурштинова кислота	1,78	5,29	5,22
8	13,96	бензойна кислота	0,20	0,36	0,22
9	15,83	глютарова кислота	0,07	0,16	0,49
10	16,99	фенілоцтова кислота	0,19	-	-
11	17,05	метоксибурштинова кислота	0,17	7,62	-
12	17,28	саліцилова кислота	0,10	-	0,27
13	19,70	тартронова кислота	-	3,33	-
14	20,22	3-окси-3-метилглютарова кислота	-	0,23	-
15	21,75	яблучна кислота	10,45	20,79	23,56
16	22,12	2-оксоглютарова кислота	-	5,05	-
17	22,35	суберова кислота	0,15	-	-
18	23,14	корична кислота	0,30	-	-
19	24,30	азелаїнова кислота	0,53	-	1,01
20	28,98	лимонна кислота	9,10	31,21	26,87
21	32,01	ванілінова кислота	0,36	0,95	1,07
22	35,24	пара-оксикорична кислота	6,28	-	0,83
23	37,10	4-оксибензойна кислота	0,15	0,29	0,18
24	37,45	бузкова кислота	0,42	0,52	0,11
25	37,92	гентизинова кислота	0,19	-	0,22
26	39,83	ферулова кислота	2,00	4,03	4,89

Висновки

1. Розроблено методики визначення якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот у траві деяких видів шавлії з використанням високоефективних інструментальних методів аналізу, а саме методу рідинної хроматографії та методу газової хроматографії з мас-детектуванням.
2. Методом газової хроматографії з мас-детектуванням встановлено більш повний склад органічних кислот в досліджуваній сировині завдяки високоефективному розподіленню компонентів складної суміші в газовій фазі та масспектрометрії, за допомогою якої ідентифікували як відомі, так і невідомі компоненти суміші.
3. Розроблена методика з використанням рідинної хроматографії дозволяє встановити вміст основних органічних кислот у досліджуваній сировині та придатна для рутинного аналізу, оскільки дозволяє обійтися без трудомісткої операції одержання похідних.

1. Державна фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр».– [1-е вид.].– Доп. 2.– Х. : ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008.– С. 59–62.
2. Применение хромато-масс-спектрометрии для изучения компонентного состава фармакопейных видов лекарственного растительного сырья / Разживин Р. В., Решетняк В. Ю., Кузьменко А. Н. [и др.] // Вестник Московского Университета.– Сер. 2.– Химия.– 2009.– Т. 50, № 1.– С. 67–70.

3. Marc Schiller, Holger von der Heydt, Frieder Marz, Peter C. Schmidt. Quanification of sugars and organic acids in hygroscopic pharmaceutical herbal dry extracts. // Journal of Chromatography A.– 968 – 2002.– P. 101–111.
4. *Гуляев И. В.* Анализ фармацевтических веществ методами газовой хромато-масс-спектрометрии и капиллярной хромадистилляции – масс-спектрометрии: Автореф. дис. …канд. хімічн. наук.– Х., 2012.– С. 8.

О. М. Семенченко, А. А. Цуркан, О. А.Кораблева

Исследование содержания органических кислот в траве некоторых видов шалфея с помощью высокоэффективных инструментальных методов анализа

Разработаны методики идентификации и количественного определения органических кислот в траве шалфея мутовчатого, шалфея отклоненного и шалфея лекарственного. Установлен состав органических кислот в исследуемом сырье. Проведен сравнительный анализ результатов, полученных с помощью метода ВЭЖХ и ГХ-МС.

Ключевые слова: органические кислоты, метод газовой хроматографии с масс-детектированием, жидкостная хроматография, шалфей мутовчатый, шалфей отклоненный, шалфей лекарственный

O. M. Semenchenko, A. A. Tsurkan, O. A. Korableva

Determination of the organic acids in the herb of salvia verticillata, salvia patens and salvia officinalis by high effective instrumental methods of analysis

The methods for identification and quantification of organic acids in the herbs of *Salvia verticillata L.*, *Salvia patens L.* and *Salvia officinalis L.* have been developed. The composition of organic acids of the dry herbal materials has been determined. The results obtaining by HPLC and GC-MS have been compared.

Key words: organic acids, gas chromatography with mass-detection, liquid chromatography, Salvia verticillata L., Salvia patens L., Salvia officinalis L.

Надійшла: 21.02.2013 р.

Контактна особа: Семенченко Ольга Михайлівна, здобувач, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», вул. Ежена Потьє 14, м. Київ, 03057. Тел.: +38 066 209 02 61. Електронна пошта: o.m.semenchenko@gmail.com