

УДК 615.451.322:582.734]:547.466]07

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЕЩЕСТВ-МАРКЕРОВ АЦЕТОНИТРИЛОВОЙ ФРАКЦИИ ЛИСТЬЕВ И ПЛОДОВ ЯБЛОНИ ЛЕСНОЙ

Н.В. Нестерова<sup>1\*</sup>, И.А. Самылина<sup>1</sup>, В.Н. Матвеев<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России; <sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; \*e-mail: nestero-nadezhda@yandex.ru)

Проведен анализ нового растительного сырья – листьев и плодов яблони лесной. Показано, что содержание экстрактивных веществ, извлекаемых ацетонитрилом, составляет 4,7–5,4% для листьев и 2,3–2,8% для плодов. Полученные извлечения использованы для выявления веществ, наличие которых специфично для данного растительного сырья и может применяться в дальнейшем для идентификации сырья в измельченном и порошкованном виде. Установлено, что для ацетонитрилового экстракта из плодов яблони лесной характерно наличие 10 пиков, а для экстракта из листьев – 22 пика, которые могут рассматриваться в качестве маркерных веществ для идентификации лекарственного растительного сырья.

**Ключевые слова:** плоды, листья яблони лесной, экстрактивные вещества, газовая хроматография, вещества-маркеры.

По данным Всемирной организации здравоохранения, фальсификация лекарственных средств считается одной из важных и серьезных угроз мировому фармацевтическому рынку [1, 2]. При этом возможность подделки препаратов на основе лекарственного растительного сырья (ЛРС) и биологически активных пищевых добавок не привлекала пристального внимания медицинской и фармацевтической научной общественности, несмотря на то, что потребительский спрос на данную группу товаров неуклонно растет, а ассортимент ЛРС расширяется. Идентификация ЛРС, в особенности измельченного, методом микроскопического анализа и качественных реакций, предусмотренных Государственной Фармакопеей (ГФ) XIV издания, требует высокой квалификации и опыта аналитика, осуществляющего экспертизу. Вместе с тем анализ научной литературы показывает перспективность использования метода газохроматографического анализа для идентификации веществ маркеров [3], совокупность которых позволяет надежно идентифицировать лекарственное растительное сырье даже в измельченном и порошкообразном виде, а также в составе сборов на основе ЛРС и экстракционных лекарственных препаратов, что позволяет реализовывать единый методический подход «сквозной» стандартизации на этапах:

ЛРС – субстанция – лекарственное средство растительного происхождения.

Листья и плоды яблони лесной содержат комплекс биологически активных веществ (БАВ), представленных флавоноидами, дубильными веществами, фенолкарбоновыми кислотами, полисахаридами, обеспечивающими широкий комплекс биологической активности.

Для надежной инструментальной идентификации подлинности сырья во избежание пересосо-

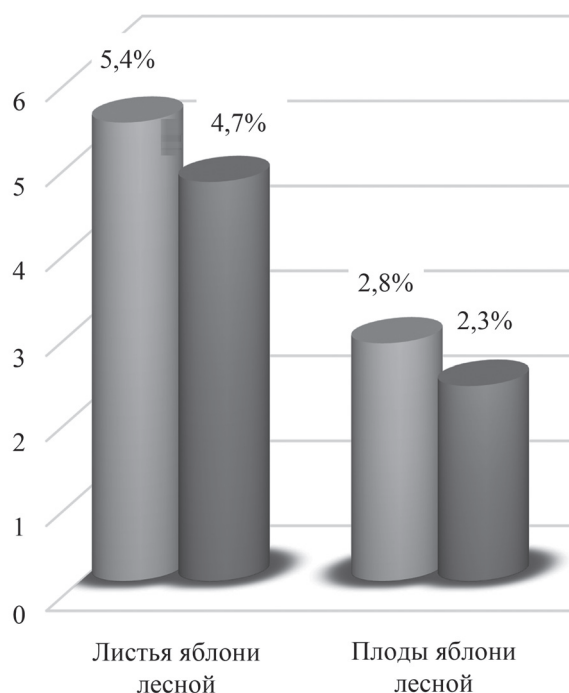


Рис. 1. Оценка содержания экстрактивных веществ, извлекаемых из сырья яблони лесной ацетонитрилом

Т а б л и ц а 1

## Оценка содержания экстрактивных веществ, извлекаемых из сырья яблони лесной ацетонитрилом

Используемый экстрагент	Содержание (%) экстрактивных веществ в исследуемом сырье яблони лесной			
	плоды		листья	
	свежие	высушенные	свежие	высушенные
Ацетонитрил (ТУ 6-09-3534-87, «ч.д.а.»)	2,8	2,3	5,4	4,7

Т а б л и ц а 2

## Компонентный состав ацетонитриловой фракции плодов яблони лесной

Время удерживания, мин	Наименование вещества	Брутто-формула
2,10	Циклопропан (Cyclopropane)	$C_3H_6$
2,838	1-бутанол (1-Butanol)	$C_4H_{10}O$
3,904	Фурфурол	$C_5H_4O_2$
9,591	2,3-диметил-1,3-бутадиен (2,3-dimethyl-1,3-Butadiene)	$C_6H_{10}$
10,1	Триацетин (Triacetin)	$C_9H_{14}O_6$
11,312	1-хлордекан (1-chlorodecane)	$C_{10}H_{21}Cl$
17,585	Трибутилацетилицитрат (Tributyl acetylcitrate)	$C_{20}H_{34}O_8$
18,044	Динониловый эфир 1,2-циклогександикарбоновой кислоты (1,2-Cyclohexanedicarboxylic acid, dinonyl ester)	$C_{26}H_{48}O_4$
18,707	Циклогексилметилнониловый эфир 1,2-циклогексан дикарбоновой кислоты (1,2-Cyclohexanedicarboxylic acid, cyclohexylmethyl nonyl ester)	$C_{24}H_{42}O_4$
18,78	Динониловый эфир 1,2-циклогексан дикарбоновой кислоты (1,2-Cyclohexanedicarboxylic acid, dinonyl ester)	$C_{26}H_{48}O_4$

Т а б л и ц а 3

## Компонентный состав ацетонитриловой фракции листьев яблони лесной

Время удерживания, мин	Наименование вещества	Брутто-формула
2,16	Циклопропан (Cyclopropane)	$C_3H_6$
3,078	2-циклопропилпропан (Propane, 2-cyclopropyl-)	$C_6H_{12}$
3,575	3-метилфуран Furan, 3-methyl-	$C_5H_6O$
3,66	Уксусная кислота (Acetic acid)	$C_2H_4O_2$
4,256	Фурфурол (Furfural)	$C_5H_4O_2$
8,863	5-гидроксиметилфурфурол 5-Hydroxymethylfurfural	$C_6H_6O_3$
10,062	Триацетин (Triacetin)	$C_9H_{14}O_6$
10,512	2-нитро-1-октанол (1-Octanol, 2-nitro-)	$C_8H_{17}NO_3$
11,107	4-метилен-2,8,8-триметил-2-винилбисцикло[5.2.0]нонан (Bicyclo[5.2.0]nonane, 4-methylene-2,8,8-trimethyl-2-vinyl-)	$C_{15}H_{24}$
11,188	Цис-бетта-фарнезен (Cis-beta-Farnesene)	$C_{15}H_{24}$
11,308	1-хлородекан (Dodecane, 1-chloro-)	$C_{12}H_{25}Cl$
11,33	Циклодекан (Cyclododecane)	$C_{12}H_{24}$
11,544	(Z,E)-3,7,11-триметил-1,2,6,10-додекатетраен (1,3,6,10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimethyl-, (Z,E)-)	$C_{15}H_{24}$
11,676	Альфа-фарнезен (alpha-Farnesene)	$C_{15}H_{24}$
15,385	Е-9-метил-8-тридецен-2-ол ацетат (E-9-Methyl-8-tridecen-2-ol, acetate)	$C_{16}H_{30}O_2$
15,462	Эстра-1,3,5(10)-триен-17-ол (Estra-1,3,5(10)-trien-17.beta.-ol)	$C_{18}H_{24}O$
16,708	(Z,Z)-9,12-октадекановая кислота (9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-)	$C_{18}H_{32}O_2$
16,896	Этиловый эфир линолевой кислоты (Linoleic acid ethyl ester)	$C_{20}H_{36}O_2$
17,551	Метилловый эфир 8,11-октадекановой кислоты (8,11-Octadecadienoic acid, methyl ester)	$C_{19}H_{34}O_2$
17,577	Трибутилацетилцитрат (Tributyl acetyl citrate)	$C_{20}H_{34}O_8$
18,181	Butyl 9,12-octadecadienoate	$C_{22}H_{40}O_2$
18,613	Isopropyl linoleate	$C_{21}H_{38}O_2$

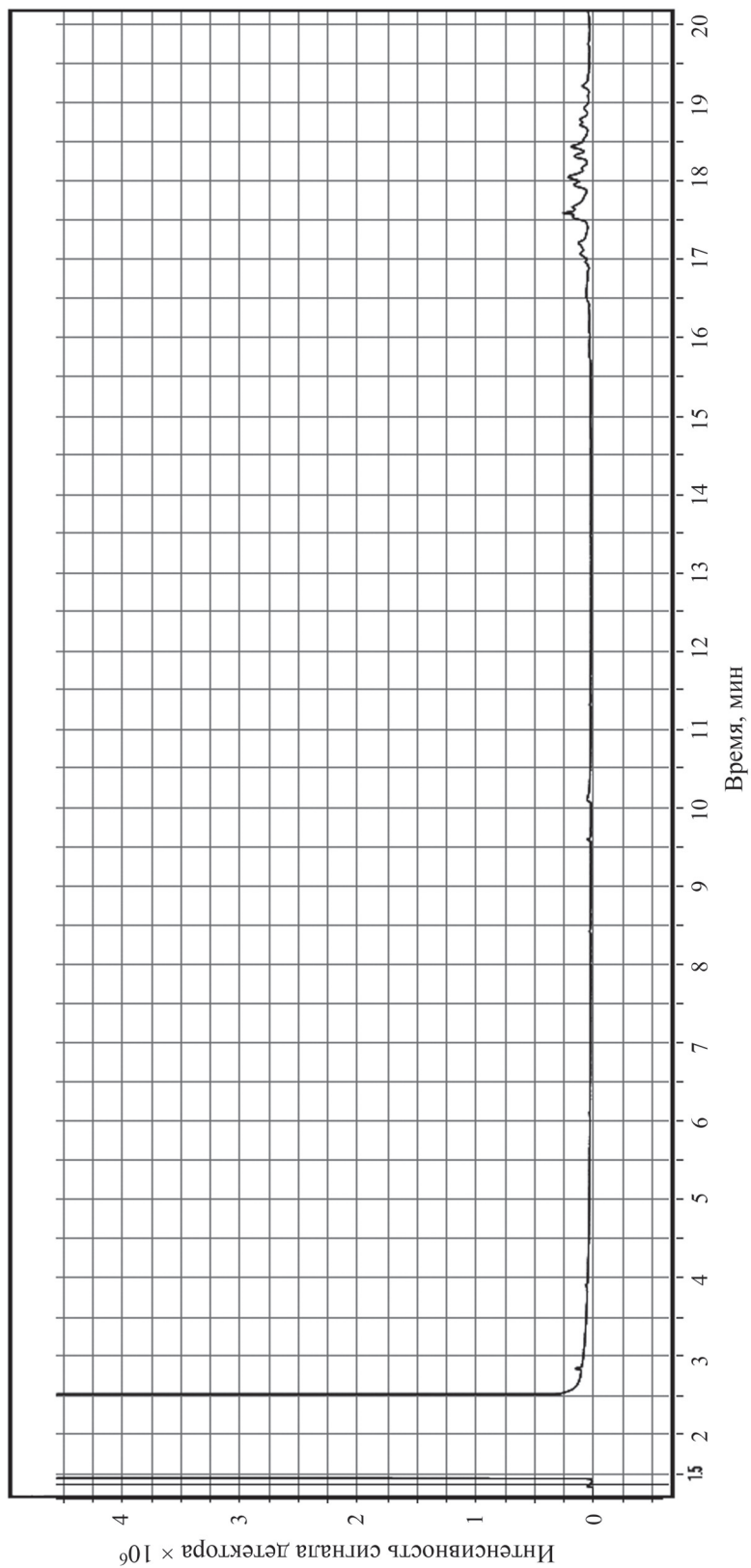


Рис 2. Общий вид хромато-масс-спектров плодов яблони лесной

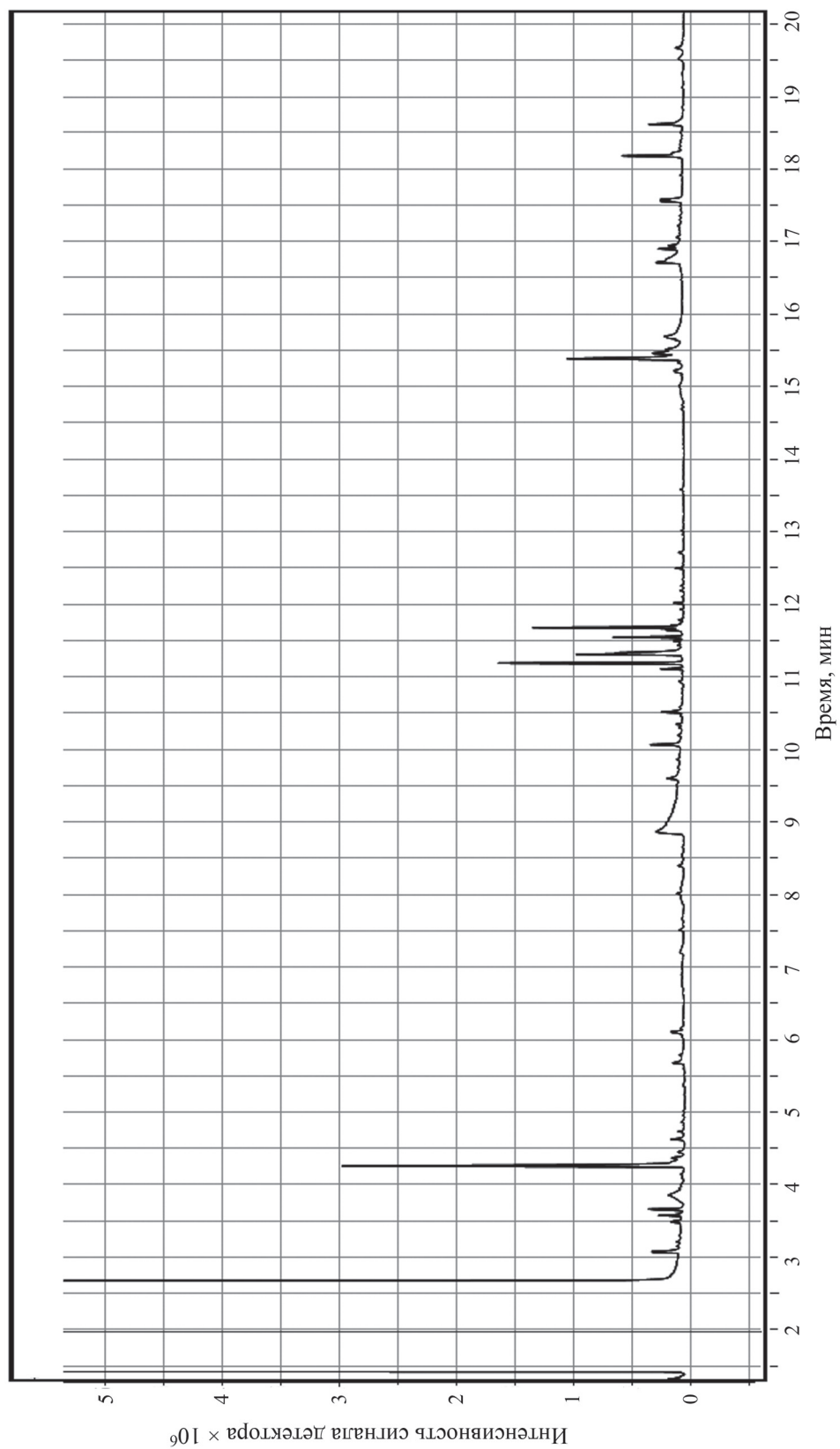


Рис. 3. Общий вид хромато-масс-спектров листьев яблони лесной

птицы или фальсификации недобросовестными производителями, а также учитывая близость химического состава исследуемого сырья другим, в том числе фармакопейным представителям семейства розоцветные Rosaceae [4–7], мы сочли целесообразным выявить редкие вещества, способные выступать в роли специфических веществ-маркеров, характерных для данного ЛРС. Как известно, это направление исследований в настоящее время рассматривается как одно из важнейших в системе стандартизации ЛРС, что неоднократно подчеркивалось в директивах Совета Евразийской экономической комиссии «Требования к исследованию стабильности средств из лекарственного растительного сырья».

С учетом вышеизложенного цель настоящей работы заключалась в оценке количественного содержания экстрактивных веществ, извлекаемых из сырья ацетонитрилом, а также в качественной оценке веществ-маркеров, позволяющих осуществить идентификацию листьев и плодов яблони лесной.

### Материалы и методы

Для идентификации веществ-маркеров и количественного определения экстрактивных веществ, извлекаемых с помощью ацетонитрила из сухого и свежего сырья, были использованы листья и плоды дикорастущих растений *Malus sylvestris*, собранные в Истринском и Чеховском районах Московской обл. в 2018 г.

На основании опыта предыдущих исследований мы использовали для извлечения и идентификации специфических веществ в листьях и плодах яблони лесной ацетонитрил (ТУ 6-09-3534-87, «ч.д.а.») (1:1).

Пробоподготовку проводили следующим образом. Запечатанные флаконы с полученными отфильтрованными извлечениями из исследуемого сырья устанавливали на 10–15 мин в ванну-мешалку «Сапфир», функционирующую на ультразвуке без предварительного нагревания, после чего отбирали 10 мл извлечения в тefлоновую колбочку и осуществляли центрифугирование на приборе центрифуга лабораторная «Ohaus Split 16000 grm» при 16 000 об/мин в течение 120 с. По окончании центрифугирования с помощью микродозатора осуществляли забор 1 мл извлечения с поверхностного слоя (во избежание попадания микрочастиц сырья) и помещали в барабан инжектора хромато-масс-спектрометра.

Исследование проводили на газовом хроматографе «Agilent Technologies 6850 Series II». Детектор масс-селективный «Agilent Technologies Network». Хроматографическая колонка «HP-5MS» (30 м × 0,25 мм).

Условия хроматографирования:

начальный изотермический участок 35 °С – 5 мин;

35–100 °С – со скоростью подъема температуры 2 °С/мин;

100–200 °С – со скоростью подъема температуры 5 °С/мин;

200–250 °С – со скоростью подъема температуры 10 °С/мин;

конечный изотермический участок – 15 мин;

температура испарителя составляла 200 °С;

температура инжектора составляла 30 °С;

скорость подачи газа-носителя (гелий) составляла 1 мл/мин.

### Результаты и обсуждение

В ходе оценки содержания экстрактивных веществ, извлекаемых ацетонитрилом из образцов свежего и высушенного сырья (листья и плоды яблони лесной), получены данные, представленные в табл. 1 и на рис. 1. Полученные ацетонитриловые извлечения использовались нами для выявления веществ-маркеров, позволяющих осуществлять идентификацию сырья.

Общий вид масс-спектров ацетонитриловых фракций листьев и плодов яблони лесной и домашней представлены на рис. 2, 3.

Как видно из данных табл. 1–3, для ацетонитрилового экстракта из плодов яблони лесной характерно наличие 10 пиков, среди которых в качестве веществ-маркеров могут рассматриваться трибутилацетилцитрат, динониловый эфир 1,2-циклогександикарбоновой кислоты, циклогексилметилниловый эфир 1,2-циклогексан дикарбоновой кислоты, а для листьев – 22 пика, среди которых в качестве веществ-маркеров могут применяться фурфурол, 5-гидрокси метилфурфурол, цис-бетта-фарнезен, альфа-фарнезен, метиловый эфир 8,11-октодекановой кислоты и трибутилацетилцитрат. Следует отметить, что все перечисленные вещества выделены из исследуемого сырья впервые.

### Выводы

В ходе проведенного исследования в листьях и плодах яблони лесной установлено, что содержание экстрактивных веществ, извлекаемых ацетонитрилом, составляет 4,7–5,4 и 2,3–2,8%

для листьев и плодов соответственно. Полученные извлечения были использованы для выявления веществ, наличие которых специфично для данного растительного сырья и может использоваться при его идентификации как в измельченном виде, так и в виде порошка.

Supported by the “Russian Academic Excellence Project 5-100”. Поддерживается «Проектом повышения конкурентоспособности ведущих российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров». Конфликта интересов нет.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сафиуллин Р.С., Миннекеева К.А., Шакирова Д.Х. // Казанский медицинский журнал. 2006. Т. 87. № 6. С. 462.
2. Аксенова-Сорохтей Ю.Н., Новикова В.Е., Пожилова Е.В., Пожилова Е.А., Барановская Е.А., Климкина Е.И. // Вестн. Смоленской государственной медицинской академии. 2016. Т. 15. № 2. С. 102.
3. Разживин Р.В., Решетняк В.Ю., Кузьменко А.Н., Нестерова О.В., Попков В.А. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2009. Т. 50. № 2. С. 129.
4. Куркин В.А., Морозова Т.В., Правдивцева О.Е., Куркина А.В. // Химико-фармацевтический журнал. 2018. Т. 52. № 10. С. 34.
5. Логвинова Е.Е. Автореф. ... дис. канд. фарм. наук. М., 2017.
6. Писарев Д.И., Новиков О.О., Скоропудов В.И., Халикова М.А., Жиякова Е.Т., Огнева О.В. // Научные ведомости. Сер. Медицина. Фармация. 2010. № 22 (93). Вып. 12/2, С. 123.
7. Бекетов Е.В., Абрамов А.А., Нестерова О.В., Кондрашев С.В. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2005. Т. 46. № 4. С. 259.

Поступила в редакцию 10.01.2019  
Получена после доработки 12.02.2019  
Принята к публикации 14.02.2019

### A COMPARATIVE STUDY OF SUBSTANCES-MARKERS ACETONITRILE FRACTION OF LEAVES AND FRUITS OF MALUS SYLVESTRIS

N.V. Nesterova<sup>1\*</sup>, I.A. Samylina<sup>1</sup>, V.N. Matveenko<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medicine University; <sup>2</sup> M.V. Lomonosov Moscow State University; \*e-mail: nestero-nadezhda@yandex.ru)

**The analysis of new plant raw materials of leaves, fruits *Malus sylvestris* showed the content of extractive substances extracted with acetonitrile, which amounted to 4.7–5.4% for leaves and 2.3–2.8 % for fruits. The obtained extracts were used to identify substances, the presence of which is specific for this plant material and can be used in the future to identify raw materials in crushed and powdered form. It was found that acetonitrile extract from the fruit *Malus sylvestris* is characterized by the presence of 10 peaks, and for the leaves – 22 peaks, which can be considered as markers for the identification of medicinal plant materials.**

**Key words:** fruits, leaves of *Malus sylvestris*, extractive substances, gas chromatography, marker substances.

**Сведения об авторах:** Нестерова Надежда Викторовна – ассистент кафедры фармацевтического естествознания ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (nestero-nadezhda@yandex.ru); Самылина Ирина Александровна – профессор, ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, докт. фарм. наук, член-корр. РАН (lazznata@mail.ru); Матвеенко Владимир Николаевич – профессор кафедры коллоидной химии МГУ им. М.В. Ломоносова, докт. хим. наук (13121946VNM@gmail.com).