

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.П. КОРОЛЕВА»
(САМАРСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

Толочилин Никита Алексеевич

**ПАРОФАЗНЫЙ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И
КАПИЛЛЯРНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ В ИССЛЕДОВАНИИ
ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ СЕМЕЙСТВА
ЯСНОТКОВЫЕ**

1.4.2. Аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата
химических наук

Научный руководитель:
Онучак Людмила Артемовна,
доктор химических наук, профессор

Самара – 2026

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1 Применение метода парофазного газохроматографического анализа для определения летучих соединений лекарственного растительного сырья	10
1.2 Применение метода капиллярного электрофореза для определения нелетучих соединений лекарственного растительного сырья	17
1.3 Состояние исследований по изучению многокомпонентного состава в лекарственных растениях «мелисса лекарственная», «котовник кошачий», «иссоп лекарственный», «змееголовник молдавский» и «лаванда узколистная»	25
1.4 Хемометрическая обработка данных в исследовании многокомпонентных объектов.....	65
1.5 Заключение к Обзору литературы	69
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	71
2.1 Объекты исследования.....	71
2.2 Методика парофазного газохроматографического анализа ЛРС.....	72
2.3 Методика проведения капиллярного электрофоретического анализа лекарственного растительного сырья.....	76
2.4 Оценка погрешности измерения определяемых величин	78
3 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	81
3.1 Парофазный газохроматографический анализ летучих компонентов лекарственных растений.....	81
3.1.1 Мелисса лекарственная	81
3.1.2 Котовник кошачий.....	100
3.1.3 Иссоп лекарственный	117
3.1.4 Змееголовник молдавский.....	127
3.1.5 Лаванда узколистная	140
3.1.6 Хемометрическая обработка результатов	149

3.2 Капиллярный электрофоретический анализ экстрактов лекарственных растений	151
3.2.1 Мелисса лекарственная и котовник кошачий.....	151
3.2.2 Лаванда узколистная	154
ВЫВОДЫ	159
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	161
ПРИЛОЖЕНИЕ	181

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В настоящее время фармацевтическая промышленность проявляет высокий интерес к лекарственным растениям и фитопрепаратам на их основе. В первую очередь это связано с широтой терапевтического воздействия на организм человека и безопасностью их применения. Отечественное производство заинтересовано в создании собственных аналогов зарубежных фитопрепаратов, широко представленных в странах Европы, импорт откуда затруднен из-за текущей политическо-экономической ситуации. По этой причине возникает потребность в разработке эффективных методов контроля подлинности лекарственного растительного сырья (ЛРС) и фитопрепаратов, что является сложной аналитической задачей с учетом их многокомпонентного состава.

Для этой цели наиболее широко применяются методы газовой хроматографии с масс-селективным детектированием (ГХ-МС) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), с помощью которых исследуются жидкие пробы экстрактов и эфирных масел ЛРС, определяя в их составе среднелетучие, слаболетучие и нелетучие компоненты, что позволяет делать вывод о видовой принадлежности растения, его происхождении, подлинности и соответствии необходимым критериям. Приготовление экстрактов и эфирных масел – это длительная и трудоемкая процедура, а получаемые результаты сильно зависят от методики, способа перегонки и выбранного экстрагента. Для получения сведений о составе ЛРС наиболее приближенных к истинным, предлагается применять метод статического парофазного анализа (ПФА) для получения проб равновесных паровых фаз (РПФ) растений с их последующим анализом методами газовой хроматографии. Метод ПФА в последние годы пользуется высокой популярностью для исследования ЛРС и других лекарственных объектов в Китае, Индии и некоторых странах Европейского Союза ввиду его простоты и эффективности. Однако в России его использование для исследования ЛРС и фитопрепаратов крайне ограничено. Это обуславливает необходимость исследования применимости метода ПФА-ГХ для исследования ЛРС.

Для определения нелетучих компонентов растений (флавоноиды, фенольные кислоты), содержащихся в спиртовых экстрактах, предлагается применение метода капиллярного электрофореза (КЭ) в рамках комплексного подхода по исследованию ЛРС. Комбинация этих методов позволит в полной мере оценить состав ЛРС и повысит точность идентификации видовой принадлежности растения.

Цель работы заключалась в разработке аналитических подходов к видовой идентификации и оценке компонентного состава растительного сырья семейства Яснотковые с применением методов парофазного газохроматографического анализа и капиллярного электрофореза.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить закономерности газовой экстракции из осушенного лекарственного растительного сырья семейства Яснотковые и выявить факторы, влияющие на формирование равновесной паровой фазы и обеспечивающие воспроизводимость состава летучих компонентов растений.

2. Методами статического парофазного газохроматографического анализа и масс-спектрометрии определить состав и идентифицировать компоненты равновесных паровых фаз ЛРС семейства Яснотковые (мелиссы лекарственной, котовника кошачьего, иссопа лекарственного, змееголовника молдавского и лаванды узколистной).

3. Установить совокупность летучих компонентов лекарственного растительного сырья и выявить набор специфичных соединений, который возможно использовать для группового анализа и определения видовой принадлежности ЛРС.

4. Оценить возможность установления подлинности лекарственного растительного сырья семейства Яснотковые методом статического ПФА с применением диаграмм «относительная площадь пика – индекс удерживания» (ПФА-спектров) исследованных образцов, представляющих собой специфичный образ ЛРС.

5. Установить возможность применения метода КЭ для идентификации компонентов этанольных экстрактов растений семейства Яснотковые и количественного определения в них нелетучих соединений (флавоноидов и фенольных кислот).

Научная новизна:

1. Предложен способ выявления факторов, влияющих на проведение газовой экстракции летучих компонентов из осушенного растительного сырья семейства Яснотковые, обеспечивающий выделение наибольшего числа летучих компонентов в паровую фазу и получение воспроизводимых результатов анализа.

2. Предложен способ определения состава равновесных паровых фаз осушенного растительного сырья семейства Яснотковых методом ПФА-ГХ: мелиссы лекарственной, котовника кошачьего, иссопа лекарственного, змееголовника молдавского и лаванды узколистной.

3. Методом ПФА-ГХ выявлены основные и специфические летучие компоненты проанализированных растений, позволяющие проводить оценку их подлинности и видовой принадлежности.

4. Показано, что представление результатов анализа летучих соединений в виде диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» (ПФА-спектры) позволяет проводить идентификацию растительного сырья методом отпечатков пальцев, что обеспечивает повышение надежности идентификации.

5. Предложен способ идентификации компонентов этанольных экстрактов растений семейства Яснотковые и количественного определения в них нелетучих соединений (флавоноидов и фенольных кислот).

Теоретическая и практическая значимость работы.

1. Установлены закономерности газовой экстракции летучих соединений из осушенного растительного сырья, выявлены факторы, обеспечивающие получение воспроизводимых результатов, установлены условия их газохроматографического анализа, что позволяет определять компонентный состав и видовую принадлежность растений.

2. Подтверждена эффективность метода КЭ для анализа нелетучих биологически ценных веществ (флавоноиды, фенольные кислоты) в растительном сырье. Предложен способ их определения.

3. Результаты исследования могут быть использованы для дальнейшего развития экспрессных и эффективных методов определения подлинности и видовой принадлежности лекарственного растительного сырья, объектов окружающей среды, пищевых продуктов и лекарственных препаратов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Выбор условий проведения газовой экстракции из лекарственного растительного сырья семейства Яснотковые, предусматривающие наиболее полное выделение летучих компонентов в паровую фазу без химических превращений, что позволяет получить их специфичный газохроматографический профиль в условиях парофазного анализа.

2. Результаты определения и идентификации компонентов равновесных паровых фаз мелисы лекарственной, котовника кошачьего, иссопа лекарственного, змееголовника молдавского и лаванды узколистной, полученные методами ПФА-ГХ-МС и ПФА-ГХ-ПВД.

3. Способ представления полученных экспериментальных данных по составу летучих компонентов равновесных паровых фаз растительного сырья семейства Яснотковые в виде ПФА-спектров «относительная площадь пика – индекс удерживания» как характеристики подлинности видовой принадлежности ЛРС.

4. Способ и результаты определения методом КЭ нелетучих компонентов (флавоноидов и фенольных кислот) в спиртовых экстрактах мелиссы лекарственной, котовника кошачьего и лаванды узколистной.

Степень достоверности результатов работы. Степень достоверности приведенных в диссертации результатов подтверждается их достаточно высокой сходимостью и воспроизводимостью, согласованностью результатов, полученных при использовании нескольких независимых методов исследования, а также сравнением полученных экспериментальных данных с литературными.

Апробация результатов и публикации. Основные результаты работы представлены на Всероссийском симпозиуме и школе-конференции молодых ученых «Физико-химические методы в междисциплинарных экологических исследованиях» (Севастополь, 2021), Международной молодёжной научной конференции «XVI

Королёвские чтения» (Самара, 2021), XV Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием (Саратов, 2021), IV Съезде аналитиков России (Москва, 2022), Девятом Всероссийском симпозиуме и школе-конференции молодых ученых, приуроченным к 150-летию со дня рождения М.С. Цвета (Сочи, 2022), Всероссийской конференции и школе-конференции молодых ученых «Физико-химические методы в междисциплинарных экологических исследованиях» (Севастополь, 2023), XXII Менделевском съезде по общей и прикладной химии (Сириус, 2024), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Химия. Экология. Урбанистика» (Пермь, 2024), IV Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «За Нами Будущее» (Санкт-Петербург, 2024), IX Всероссийском молодежном научном форуме «Наука будущего – наука молодых» (Самара, 2024), Всероссийской конференции с международным участием «Теория и практика хроматографии. Подготовка кадров» (Самара, 2026).

По теме диссертации опубликовано 3 статьи в журналах «Известия Саратовского университета», «Сорбционные и хроматографические процессы», «Аналитика и контроль» рекомендованных ВАК, а также 11 тезисов докладов.

Личный вклад соискателя заключается в экспериментальном исследовании паровой фазы лекарственного растительного сырья методом газовой хроматографии в сочетании с пламенно-ионизационным и масс-спектрометрическим детектором, выявлении условий установления равновесия в системе «конденсированная фаза – воздух», идентификации полученных летучих компонентов с привлечением масс-спектров, литературных источников, существующих баз данных, хемометрической обработке результатов, исследовании спиртовых экстрактов лекарственного растительного сырья методом капиллярного зонного электрофореза, обсуждении результатов, подготовке публикаций.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, в которой изложены результаты проведенных исследований и их обсуждение, выводов, списка цитируемой

литературы (180 наименований) и приложения (1 таблица). Материалы диссертации изложены на 184 страницах текста, включая 12 таблиц и 41 рисунок.

Благодарности. Автор благодарит научного руководителя д.х.н., профессора Л.А. Онучак за помощь и поддержку на всех этапах выполнения работы, к.х.н., доцента К.А. Копытина за ценные советы, консультации и помощь в проведении хроматографического исследования, к.х.н., доцента Ю.Г. Кураеву за консультации и помощь в проведении электрофоретического эксперимента, к.х.н., доцента Редькина Н.А. за ценные советы и консультации, д.фарм.н., профессора В.А. Куркина и д.фарм.н., профессора О.Е. Правдивцеву за ценные советы, предоставление растительных образцов и стандартов, а также к.б.н., доцента И.В. Рузаеву и всех сотрудников Самарского Ботанического сада за предоставление ботанических образцов растений для проведения анализа.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Применение метода парофазного газохроматографического анализа для определения летучих соединений лекарственного растительного сырья

Парофазный газохроматографический анализ (ПФА-ГХ) – метод, при котором в качестве объекта газохроматографического исследования выступает равновесная паровая фаза (РПФ) образца, полученная способом газовой экстракции. В ходе газовой экстракции из жидких или твердых проб извлекаются летучие компоненты, входящие в их состав, с последующим анализом газохроматографическими методами. Полученная таким образом химическая информация, содержащаяся в газовой фазе, используется для суждения о природе и составе контактирующей с ней конденсированной фазы [1]. Первым изданием по ПФА анализу в виде практического руководства считается работа Х. Хахенберга и А. Шмидта [2], которое затем теоретически обосновали и дополнили А.Г. Витенберг и Б.В. Иоффе [1]. В дальнейшем, совершенствованием метода занимались ученые Б.В. Столяров, Б. Колб, Л.С. Эттре, Н. Сноу, Г. Слэк, Л.Н. Москвин, О.В. Родинков [3-9]. Развитие методов газовой экстракции открывает широкие возможности обнаружения ничтожных примесей в атмосфере, других газообразных средах и находящихся в них веществах. Особенности этих методов делают их во многих случаях незаменимыми и весьма эффективными [1].

Существует два основных способа извлечения летучих компонентов из конденсированной фазы – статический и динамический. Самый простой способ статического ПФА анализа предусматривает однократный цикл газовой экстракции в замкнутом сосуде, который выдерживают при постоянной температуре до установления равновесия между фазами «газ – конденсированная фаза» в гетерогенной системе. При этом, чувствительность анализа определяется объемом контактирующих фаз и величиной коэффициента распределения (K). При высоком значении коэффициента распределения ($K > 10^3$) для повышения степени извлечения летучих компонентов из пробы необходимо многократно увеличить объем

контактирующих фаз, что позволяет реализовать на практике способ динамического ПФА анализа. Его суть заключается в непрерывном пропускании больших объемов воздуха или газа сквозь конденсированную фазу (жидкость или твердое вещество). Затем этот газовый поток с извлеченными летучими компонентами образца либо сразу исследуют на газовом хроматографе, либо подвергают концентрированию, что более предпочтительно, для увеличения содержания аналита в газовом экстракте. За рубежом этот способ более известен под названием «purge and trap» [9-13].

Простота и высокая эффективность метода газовой экстракции обуславливает его высокую популярность во многих направлениях по всему миру. Так в настоящее время метод ПФА в самых разнообразных исполнениях активно используется в исследованиях комплексов включения летучих органических соединений с циклодекстринами [14], маркерных соединений в выдыхаемом воздухе с целью ранней диагностики различных заболеваний [15, 16], сложных многокомпонентных объектов и смесей [17], твердых тел, взвесей и эмульсий [18, 19], пищевых продуктов [20, 21], объектов природного происхождения [22], определения содержания микропластика в тканях животных [23]. В последние годы наблюдается высокий интерес к применению метода ПФА анализа в исследовании лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов на их основе.

Лекарственное растительное сырье повсеместно используется человеком, поэтому проведение процедуры контроля подлинности необходимо для поддержания высокой биологической ценности продукции и безопасности ее применения. При производстве лекарственного растительного сырья и препаратов на их основе может происходить их контаминация другими растениями, в том числе сорными (люцерна, пырей, клевер, и т.п.), что негативно влияет на лечебные свойства готового продукта, а также может спровоцировать сильные аллергические реакции при употреблении. Кроме того, существует риск, что невнимательный или недобросовестный производитель осуществит сбор другого внешне похожего растения, обладающего иными лечебными свойствами, употребление которых может причинить вред лицам с определенными заболеваниями [24].

В работе [25] методом статического парового анализа в комбинации с ГХ-МС исследованы фитопрепараты из корневищ куркумы длинной полученные шестью различными способами обработки (свежие образцы, традиционные отвары, уксусные отвары). Газовую экстракцию проводили, выдерживая образцы в термостате при температуре 140 °С в течение 15 минут. Полученные газовые экстракты исследовали методом ГХ-МС для получения сведений о составе летучих компонентов. В результате, суммарно было зарегистрировано 74 летучих компонента, при этом больше всего соединений содержалось в свежем образце, когда как после традиционной обработки и обработки уксусом число компонентов снижалось.

Состав летучих компонентов конкретов и абсолютов жасмина четырех видов, выращенных в Египте, был исследован в работе [26] методом ПФА-ГХ-МС. В общей сложности было идентифицировано 157 летучих компонентов, принадлежащих к различным классам, включая монотерпеновые углеводороды, кислородсодержащие монотерпены, сесквитерпеновые углеводороды, кислородсодержащие сесквитерпены, дитерпены, тритерпены, фенилпропаноиды, производные жирных кислот, алифатические углеводороды и азотсодержащие соединения. В качестве ключевых фитомаркеров аромата жасмина были определены 8 веществ: бензилацетат, бензилбензоат, фитола, линалоол, изофитола, гераниллиналоол, метиллинолеат и эвгенол. Авторы подтверждают эффективность метода ПФА для исследования растений по сравнению с экстракцией растворителями для извлечения летучих компонентов, поскольку снижается вероятность их модификации и потери во время нагрева и удаления растворителя.

Эфирные масла и газовые экстракты из сухого сырья мяты длиннолистной и шалфея многостебельного исследовались авторами работы [27] методами ГХ-ПВД и ГХ-МС. Эфирное масло получали при помощи гидродистилляции на аппарате Клевенджера, а газовые экстракты получали на приставке для парового анализа из 1 г растительного сырья выдерживанием при температуре 90 °С в течение 20 минут. Результаты показали отсутствие существенных различий в химическом составе мяты и шалфея, полученного двумя различными методами. Среди летучих веществ были обнаружены монотерпены и сесквитерпены, а именно пулегон, 1,8-цинеол, п-мент-3-

ен-8-ол, α -пинен, β -пинен, мирцен, камфен, 1,8-цинеол, мирцен, борнеол, камфора, лимонен, α -пинен, борнилацетат и лимонен. Ввиду эффективности и экологической чистоты авторы рекомендуют применение метода ПФА-анализа для исследования летучих компонентов растений.

В работе [28] методом ПФА-ГХ-МС авторы исследовали состав летучих соединений растений душицы, базилика, розмарина, тысячелистника и тимьяна. Равновесные паровые фазы получали путем термостатирования навески высушенного растительного сырья в закрытом сосуде при температурах от 40 °С до 90 °С в течение 20 минут. По результатам исследования авторы делают вывод о том, что для проведения газовой экстракции предпочтительнее использовать температуры от 70 °С до 90 °С. Это позволит обнаружить наибольшее количество растительных летучих веществ без риска искажения состава образцов, вследствие температурных превращений компонентов. Тогда как слишком низкие температуры экстракции не позволяют в полной мере извлечь компоненты из клеточных стенок растительного сырья и оценить их состав.

Метод ПФА-анализа в комбинации с техникой полного испарения (FET) использовался авторами работы [29] для исследования летучих компонентов конопли посевной. Экспериментальным путем были установлены параметры пробоподготовки: приблизительно 5 мг измельченных цветков конопли вносили в пробирку для анализа газовой фазы с добавкой 2 мкл внутреннего стандарта. Которые затем термостатировали в течение 20 минут при 100 °С в режиме перемешивания. Предложенная авторами методика была успешно валидирована в соответствии с судебно-медицинскими рекомендациями для анализа 45 терпенов в цветках конопли, включая 16 монотерпенов, 16 монотерпеноидов, 7 сесквитерпенов и 6 сесквитерпеноидов. Метод полного испарения (FET), разработанный учеными Маркеловым и Гузовским, в отличие от классического метода ПФА предполагает полное испарение малого количества пробы в замкнутом сосуде, что позволяет устранить влияние матрицы пробы и влияние коэффициентов распределения на состав паровой фазы [30].

Авторами статьи [31] использовался метод ПФА в комбинации с газовой хроматографией и спектрометрией ионной подвижности (ГХ-СИП) для выявления

фальсификатов порошка женьшеня ложного. Навеску чистого порошка женьшеня и его смесей с пшеничной мукой, крахмалом и желтым декстрином в различных пропорциях выдерживали в термостате при температуре 80 °С в течение 20 минут для получения паровой фазы, которую исследовали методом ГХ-СИП. В результате авторами было идентифицировано 95 летучих соединений, включая альдегиды, спирты, кетоны, эфиры, кислоты, терпены, гетероциклы, нитриды и сульфиды. Также ими отмечены важные вещества-маркеры для выявления фальсификатов порошка женьшеня (пропановая кислота, уксусная кислота, метилацетат, бутилацетат, этилацетат, 1-гептанол, 3-метил-1-бутанол, октаналь, (Е)-2-гептеналь, пентаналь, бензальдегид, фурфурал, цитронеллаль, 2-пропеналь, 2-деканон, ацетон, 3-гидрокси-2-бутанон, пинен).

Цветки женьшеня настоящего исследовались авторами работы [32] с помощью метода ГХ-МС с использованием четырех методов экстракции для приготовления проб: паровой дистилляции, сверхкритической флюидной экстракции, твердофазной микроэкстракции из паровой фазы (ПФА-ТФМЭ) и статического ПФА. В результате чего было идентифицировано 67, 20, 38 и 18 компонентов цветков женьшеня соответственно каждому способу пробоподготовки. Авторы делают вывод, что методы паровой дистилляции и сверхкритической флюидной экстракции эффективны, но трудозатратны для исследования растительных объектов, когда как ПФА-ТФМЭ и статический ПФА куда более просты в использовании, однако имеют свои ограничения в обнаружении нелетучих соединений. При этом способ ПФА-ТФМЭ показал большую эффективность по сравнению со статическим ПФА. Также авторы не указывают температуру, при которой получали РПФ женьшеня, что является очень важным моментом при исследовании растительных объектов методом ПФА.

Метод ПФА-ТФМЭ был впервые описан в 1993 году. Его суть заключается в комбинации различных методов классического ПФА с последующим проведением твердофазной экстракции, при которой летучие компоненты адсорбируются на твердом сорбенте, который располагается над образцом, после чего адсорбированные вещества десорбируют и используют для анализа. [33]. При этом возможны различные исполнения этого процесса, в том числе с проведением многократного

концентрирования летучих компонентов на поверхности сорбента, что повышает чувствительность анализа, однако увеличивает трудоемкость по сравнению с классическим ПФА и требует дополнительного технического оснащения. Метод ПФА-ТФМЭ в последние годы активно применяется за рубежом для исследования летучих компонентов растений и фитопрепаратов. Это связано с тем, что такой способ пробоподготовки объединяет в себе преимущества методов ПФА и твердофазной микроэкстракции, а именно: отсутствие необходимости применения растворителей, низкое влияние на действительный компонентный состав растительного образца, высокая чувствительность, селективность и универсальность метода, возможность совмещения с хемометрической обработкой результатов и машинным обучением [33-36]. Однако помимо преимуществ этот метод обладает и рядом недостатков по сравнению с классическим ПФА, главный из которых заключается в разнице в средстве типов сорбентов с компонентами равновесной паровой фазы, что влияет на степень их адсорбции и приводит к искажению истинного состава равновесной паровой фазы в сторону хорошо адсорбирующихся летучих компонентов [37, 38]. Кроме того, из минусов данного метода можно выделить повышенную трудоемкость и стоимость анализа по причине использования сорбентов [37-39].

Метод ПФА-ТФМЭ с ГХ-МС использовался в работе [40] для исследования восьми сортов китайского фиолетового чеснока. Было идентифицировано и количественно определено 36 летучих соединений, представляющих различные классы, включая фенолы, альдегиды, спирты, серосодержащие соединения (диаллилтрисульфид, диаллилсульфид, аллилметилдисульфид и 3h-1,2-дитиол), углеводороды, эфиры, кетоны и фураны.

В работе [41] методом ПФА-ТФМЭ с ГХ-МС исследовали шесть видов растений, произрастающих в засушливых районах северной Африки: тимьян алжирский, полынь полевая, можжевельник финикийский, дубровник обыкновенный, полынь белая розмарин лекарственный. Паровую фазу получали из навески 1 г каждого растения в пробирке на водяной бане при температуре 70 °C в течение 30 минут, после чего летучие компоненты адсорбировали на волокнах карбоксина/полидиметилсилоксана. В результате эксперимента был идентифицирован в общей сложности 91 компонент. В

тимьяне алжирском обнаружено 39 соединений, с преобладанием β -мирцена, камфоры и линалилацетата. В полыне полевой – 37 соединений, с преобладанием β -фарнезена и β -мирцена. В можжевельке финикийском – 50 соединений с преобладанием α -пинена. В дубровнике обыкновенном – 42 вещества (α -гуайен, транс-кариофиллен, γ -элемен). В розмарине лекарственном – 45 веществ (камфора, транс-кариофиллен). В полыни белой – 41 компонент (α -туйон, β -туйон).

Метод ПФА-ТФМЭ с ГХ-МС применялся в работе [42] для определения летучих органических соединений, содержащихся в веретеннике крупноголовом и веретеннике ланцетовидном. После получения равновесной паровой фазы в пробирке из навески измельченного растительного сырья 0,5 г при температуре 70 °С в течение 30 минут, туда помещался твердый сорбент и выдерживался с течение 1 часа для адсорбции летучих соединений. В результате для веретенника крупноголового было обнаружено 36 компонентов с наибольшим содержанием атрактилона (40,12%). Для веретенника ланцетовидного зарегистрировано 56 компонентов с преобладанием эудесма-4(14),11-диена (16,49%).

Метод ПФА-ТФМЭ также применялся для исследования состава летучих компонентов различных лекарственных и пищевых культур в работах [43-52].

Таким образом, метод парофазного анализа в настоящее время является активно развивающимся методом, который применяется для проведения исследований в биомедицинской, фармацевтической и пищевой сферах. Этот метод в различных комбинациях широко используется для исследования летучих компонентов лекарственных растений с целью определения подлинности и видовой принадлежности сырья, особенно при рутинном контроле, ввиду высокой эффективности и простоты проведения. В актуальной Государственной Фармакопее XV издания [53] метод ПФА-ГХ описан в общей фармакопейной статье по газовой хроматографии для определения летучих соединений в жидких и твердых образцах, однако конкретные методики, где этот метод применялся бы для исследования ЛРС отсутствуют, отдавая предпочтение микроскопическому исследованию морфологических признаков растений и ТСХ анализу.

1.2 Применение метода капиллярного электрофореза для определения нелетучих соединений лекарственного растительного сырья

Капиллярный электрофорез (КЭ) – метод разделения смеси заряженных или нейтральных молекул, основанный на различии в их электрофоретических подвижностях и/или распределении между раствором и движущимися в электрическом поле заряженными частицами (мицеллами, коллоидными частицами, металлокомплексами, молекулами полиэлектролитов) [54]. Среди достоинств этого метода выделяют его высокую эффективность (миллионы т.т.), малый объем вводимой пробы, простая процедура пробоподготовки, простое и сравнительно недорогое аппаратное оформление, возможность автоматизации.

Электрофорез как метод исследования был предложен шведским биохимиком. Арне Тизелиусом в 1948 году, однако широкое распространение этот метод получил с 1980-х годов, после предложения ученых Йоргенсона и Лукаса использовать для электрофоретического исследования узкие кварцевые капилляры с внутренним диаметром 75 мкм. Такой подход увеличил селективность разделения и избавил традиционный электрофорез от мешающих тепловых эффектов и конвекции жидкости, а также способствовал интенсивному «рассеиванию» джоулева тепла, позволяя применять высокие напряжения вплоть до 30000 В [54].

Метод КЭ основан на разделении сложных смесей компонентов, находящихся в буферном электролите, заполняющем кварцевый капилляр, при приложении к нему разности потенциалов и детектировании в потоке жидкости. После подачи высокого напряжения (до 30 кВ) к концам кварцевого капилляра компоненты анализируемой смеси мигрируют с разной скоростью, зависящей от заряда и ионного радиуса аналитов. Аналиты разделяются в виде узких зон, в разное время достигая зоны детектирования. Качественной характеристикой аналита является время миграции, а количественной высота или площадь пика, пропорциональная концентрации определяемого соединения [54, 55].

Наиболее распространенными вариантами КЭ являются зонный и мицеллярный. В капиллярном зонном электрофорезе ионогенные компоненты сложной смеси

движутся в среде электролита под действием приложенного напряжения, однако в этом случае невозможно проводить разделение нейтральных аналитов, не обладающие собственной электрофоретической подвижностью. Мицеллярный КЭ, также известный как мицеллярная электрокинетическая хроматография (МЭКХ), позволяет разделять как ионогенные, так и нейтральные компоненты. В этом методе в состав буферного электролита вводится поверхностно-активное вещество (ПАВ) в концентрации, превышающей критическую концентрацию мицеллообразования. Компоненты раствора пробы распределяются между рабочим буфером и мицеллярной фазой, образованной введенным детергентом [54, 55].

В настоящее время метод КЭ применяется во многих областях: криминалистика, биомедицинские исследования, экологический мониторинг, анализ продовольственного сырья, пищевых продуктов, напитков, лекарственных растений. Важной областью применения КЭ стала фармацевтика, что связано с высокой эффективностью этого метода в разделении энантиомеров и изучении проблем метаболомики и протеомики [56].

Метод КЭ в последние годы используется для исследования состава нелетучих компонентов растений в качестве альтернативы ВЭЖХ, поскольку при высокой эффективности разделения метод КЭ дешевле в эксплуатации, экономичнее, не требует использования токсичных растворителей, более прост в использовании и пробоподготовке [57]. Кроме того, метод КЭ универсален и позволяет определять в составе растений минералы, аминокислоты, углеводы, жирные кислоты, фенольные соединений, алкалоиды, флавоноиды, а также пептиды, белки и прочие соединения [58-62]. Также стоит отметить, что капиллярный электрофорез легко поддается техническому совершенствованию в виде минитюаризации и автоматизации процесса анализа, что способствует росту мобильности и экспрессности метода [63, 64].

В работе [65] методом КЭ были проанализированы настои и отвары ромашки аптечной, липы крупнолистной и мяты перечной на содержание короткоцепочечных органических кислот (яблочной, янтарной, винной, лимонной и молочной). Настои получали путем экстракции из 1 г измельченного растительного сырья в 200 мл горячей дистиллированной воды в течение 5 минут. Отвары получали кипячением 1 г сухого

растительного сырья в дистиллированной воде. Эксперимент проводили на системе капиллярного электрофореза Agilent CE с диодно-матричным детектором на кварцевом капилляре (72 см × 50 мкм), в качестве фонового электролита применяли бромид цетилтриметиламмония. В результате было установлено, что все кислоты (кроме незарегистрированной молочной кислоты) в тех или иных количествах содержатся в проанализированных образцах. Винная кислота в значительных количествах присутствует только в экстрактах мяты, а янтарная кислота присутствует в мяте и ромашке, но в низких концентрациях. Яблочная кислота всегда присутствует в значительных количествах, от 18,3 до 111,5 мг/л, во всех проанализированных экстрактах (особенно в мяте). Лимонная кислота была идентифицирована в чае из ромашки и мяты (17,34–104,49 мг/л) и только в низких концентрациях в чае из липы. При этом более высокие концентрации наблюдались в отварах проанализированных растений.

Авторами работы [66] исследовано содержание фенольных кислот и флавоноидов в экстрактах трех лекарственных растений (агератум конизовидный, подорожник большой, лопух большой) при помощи метода КЭ с диодно-матричным детектором, ЯМР и ТСХ. Экстракты получали методом мацерации в 25 мл 70% водно-спиртового раствора в соответствии с рекомендациями Бразильской Фармакопеи. Электрофоретическое исследование проводили на приборе Agilent 7100CE на кварцевом капилляре с применением трис(гидроксиметил)аминометана в качестве фонового электролита. Таким образом, при анализе агератума методом КЭ было идентифицировано присутствие 13 флавоноидов и 7 фенольных кислот, с присутствием в экстракте других неидентифицированных соединений, вероятно, тоже относящихся к классу флавоноидов. Электрофоретический профиль лопуха большого показал разнообразие фенольные кислот и флавоноидов, при этом флавоноиды были обнаружены в низких концентрациях. В экстракте подорожника большого обнаружены преимущественно фенольные кислоты и другие простые фенолы.

Метод КЭ в комбинации с амперометрическим детектированием применялся в работе [67] для изучения состава экстрактов валерианы лекарственной различного происхождения, полученных из навески сухого растительного сырья массой 1 г в

ультразвуковой ванне с 80% этанолом в качестве экстрагента. В результате были определены следующие компоненты экстрактов валерианы: акацетин, диосметин, хлорогеновая кислота, кемпферол, апигенин, лютеолин, гидроксibenзойная кислота и кофейная кислота. Данные показывают, что образцы валерианы содержат большое количество флавоноидов и фенольных кислот, что особенно верно для хлорогеновой кислоты, акацетина и апигенина.

В работе [68] семена чилибухи обыкновенной и корневища коптидиса, а также пищевые добавки на их основе исследовались методом КЭ с целью определения количества алкалоидов берберина и стрихнина в экстрактах полученными различными способами. По первому способу экстракты образцов получали из навески под давлением, по второму способу для экстракции применяли аппарат Сокслета. В обоих случаях в качестве экстрагента использовался метанол. Электрофоретическое исследование проводилось на приборе CE/L1 с УФ-детектором на кварцевом капилляре (75 см × 75 мкм) с ацетатным буфером в качестве электролита. В результате авторы установили, что экстракция под давлением обладает более высокой эффективностью по сравнению с экстракцией по Сокслету, кроме того, метод КЭ успешно показал себя в определении алкалоидов в сложной органической матрице растений.

Дендробиум четковидный 10 различных районов происхождения исследовался в работе [69] в целях идентификации и оценки качества по «отпечаткам пальцев» методом КЭ. Экстракты образцов получали выдерживанием навески высушенного сырья 0,5 г на водяной бане в 20% растворе этанола, полученные экстракты высушивали, а сухой остаток растворяли в ультразвуковой ванне в 5 мл 20% раствора метанола. Разделение проводилось с использованием капилляра из плавленого кварца (60 см × 75 мкм) с боратным буфером в качестве фонового электролита. Всего в 69 образцах, собранных в 10 различных местах произрастания, было идентифицировано 15 характерных пиков КЭ-отпечатка дендробиума. Авторы сделали вывод, что электрофоретические профили этого растения в целом соответствуют их происхождению, хотя количество и интенсивность поглощения пиков различались, а анализ электрофоретических «отпечатков пальцев» в сочетании с хеометрической

обработкой экспериментальных данных позволили быстро и достоверно проводить классификацию видов растений.

Метод КЭ использовался в работе [70] для исследования состава алкалоидов в экстрактах корней софоры желтоватой, софоры тонкийской и семян софоры лисохвостной. Разделение проводили на системе капиллярного электрофореза Agilent CE с диодно-матричным детектором на кварцевом капилляре (64,5 см × 50 мкм). Экстракты для анализа получали из навески 0,5 г измельченного сырья экстрагированием в 40 мл хлороформа в течение ночи, после чего экстракт выпаривали, а сухой остаток растворяли в метаноле с доведением объема до 10 мл. Общее содержание семи алкалоидов варьировалось от 0,04 мг/г до 23,5 мг/г. Среди них оксиматрин имел самое высокое содержание (14,32 мг/г) во всех образцах, оксисофокарпин (5,767 мг/г) и матрин (5,231 мг/г) занимали второе и третье места по содержанию алкалоидов соответственно. В отличие от этого, содержание цитизина, софокарпина, леманнина и софоранола было относительно низким, а цитизин практически не обнаруживался.

В работе [71] проводилось исследование шесть алкалоидов, содержащихся в могильнике обыкновенном (гарман, норхарман, гармин, гармалин, гармол и гармалол), которые обычно трудно разделить методом ВЭЖХ. Для этого авторы использовали метод мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ) с диодно-матричным детектором P/ACE 5050 на кварцевом капилляре (47 см × 75 мкм), в качестве мицеллярного буферного раствора применялась борная кислота в смеси с додецилсульфатом натрия, ацетонитрилом и мочевиной в различных соотношениях и концентрациях. На полученных электрофореграммах смеси алкалоидов порядок миграции выглядел следующим образом: гармол > гармалол > норхарман > гарман > гармин > гармалин. Спектры поглощения каждого пика в смеси соответствовали спектральному профилю отдельных алкалоидов и, таким образом, подтверждали идентичность каждого пика в смеси. Таким образом авторы успешно разделили смесь шести алкалоидов могильника обыкновенного представив новую методику анализа этой фармакологически и токсикологически важной группы соединений.

Метод МЭКХ с МС-детектированием использовался в работе [72] для определения артемизинина и его аналогов, содержащихся в экстрактах полыни однолетней. Экстракты получали из навесок (25 мг) измельченных высушенных образцов растительного сырья различного происхождения, которые тщательно смешивали с 1 мл этанола, выдерживали при комнатной температуре в течение 10 мин и экстрагировали в течение 1 ч при 75 °С. Полученные экстракты анализировали на системе капиллярного электрофореза Agilent 7100 CE, который соединялся с масс-селективным детектором при помощи распылителя Agilent G1607B. Разделение проводилось на кварцевом капилляре (90 см × 50 мкм), в качестве фонового электролита использовался формиат аммония с добавкой перфтороктаноат аммония, в качестве мицеллообразующего агента. В результате, авторами были определены методом МЭКХ артемизин и его аналоги (аскаридол, артемизиакетон, кастицин, дезоксиартемизинин, артеанновая кислота, артеметин, дигидроартемизиновая кислота) что доказывает, что этот относительно редко используемый метод хорошо подходит для разделения и чувствительного определения нейтральных компонентов, не обладающих хромофорными/флуоресцентными характеристиками. Было достигнуто разделение артемизинина от других нейтральных компонентов и даже было продемонстрировано увеличение эффективности разделения нескольких заряженных компонентов.

Метод КЭ с диодно-матричным детектированием параллельно с ВЭЖХ-УФ использовался авторами работы [73] для оценки содержания флавоноидов в листьях зеленой малины и шелковицы черной. Электрофоретическое исследование проводили на приборе Agilent 7100CE на кварцевом капилляре (40 см × 50 мкм). Экстракты готовили из навески высушенного сырья в 1 мг в 1 мл метанола. Таким образом, количественное содержание кверцетина и кемпферола в зеленой малине методом ВЭЖХ-УФ составило $848,43 \pm 66,68$ мкг/г и $304,35 \pm 17,29$ мкг/г, соответственно, методом КЭ обнаружили только кверцетин в количестве $836,37 \pm 149,43$ мкг/г. В экстракте шелковицы черной методом ВЭЖХ-УФ содержание кверцетина и кемпферола составило $2323,90 \pm 145,35$ мкг/г и $1446,36 \pm 59,00$ мкг/г соответственно, а методом КЭ – $2552,82 \pm 275,30$ мкг/г и $1188,67 \pm 99,21$ мкг/г соответственно.

Десять образцов пыльцы рогоза узколистного различных районов произрастания и четыре продукта на их основе исследовались методом КЭ в работе [74] с целью их идентификации по «отпечаткам пальца». Экстракты для количественного определения готовили из 0,5 г высушенного сырья в 100 мл метанола в ультразвуковой ванне в течение 60 минут, для анализа «отпечатков пальцев» навеска сырья для приготовления экстракта составляла 2,0 г. Эксперимент проводился на системе капиллярного электрофореза Agilent G1600-AX с диодно-матричным детектором на кварцевом капилляре (75 см × 75 мкм) с раствором тетрабората натрия в качестве фонового электролита. В результате авторами работы были успешно идентифицированы основные биологически активные соединения рогоза узколистного в образцах: нарингенин, изорамнетин 3-О-(2G-а-L-рамнозил)-рутинозид, рамнетин 3-О-неогесперидозид, изорамнетин, кверцетин 3-О-(2G-а-L-рамнозил)-рутинозид, кверцетин 3-О-неогесперидозид, кемпферол и кверцетин. Кроме того, была смоделирована средняя электрофореграмма проанализированных образцов, которую можно применять в качестве стандартного «отпечатка пальца» для оценки качества сырья и продуктов из пыльцы рогоза узколистного.

Метод КЭ с использованием твердофазной экстракции применяли для определения остатков девяти фосфорорганических пестицидов в кукурузе (фората, кумафоса, хлорпирифоса, профенофоса, дихлорвоса, тербуфоса, диметоата, паратиона и изокарбофоса) [75]. Экстракт готовили из 2,0 г кукурузной муки в ультразвуковой ванне в течение 20 минут с использованием метанола и ацетонитрила в качестве экстрагента, после чего в него погружали полисульфоновое волокно и выдерживали на ультразвуковой ванне еще 25-40 минут. Затем волокна переносили в пробирку и проводили десорбцию компонентов с помощью метанола с добавкой ацетонитрила. Исследование экстракта проводили при помощи метода КЭ с УФ-детектированием на многопараметрической системе хемилюминесцентного анализа МРІ-В. Таким образом, авторы работы подтверждают способность представленного метода в обнаружении девяти остатков фосфорорганических пестицидов, что значительно превышает предельные требования к этим пестицидам в кукурузе. При этом в трех проанализированных образцах содержание пестицидов не превышало ПДК.

В настоящее время метод КЭ активно применяется для разделения смесей энантиомеров, что особенно актуально в исследовании растений. Растительные биологически активные вещества в большинстве своем обладают свойством хиральности и содержатся в составе растений в виде смеси энантиомеров. Известно, что энантиомеры обладают различной фармакологической активностью и в большинстве случаев этот эффект ограничен лишь одним из энантиомеров [76], тогда как второй энантиомер может вовсе не оказывать никакого воздействия на организм. При этом только около 25% лекарств вводятся в виде чистых энантиомеров, что указывает на важность исследования хирального разделение энантиомеров лекарственных средств в фармакокинетике и фармакодинамике [77].

Разделение энантиомеров двух непротеиногенных аминокислот (гомопролин и гомопипеколиновая кислота), содержащихся в стальнике колючем, стальнике полевом, люцерны посевной и язвеннике ранозаживляющем выполнено авторами работы [78] методами КЭ и ВЭЖХ. Для приготовления экстрактов применялись различные методы твердофазной экстракции на адсорбенте с последующей десорбцией компонентов с помощью метанола и модификацией полученного раствора циклодекстринами в качестве хиральных селекторов. В результате, присутствие гомопролина и гомопипеколиновой кислоты было подтверждено во всех видах, при этом содержание гомопипеколиновой кислоты варьировалось от 1 мкг/г до 500 мкг/г, а гомопролина – от 6 мкг/г до 60 мкг/г, что связано с видом, географическим происхождением и ботаническими частями растения. Наиболее богатыми источниками этих двух аминокислот оказались образцы корней стальника колючего. Что касается разделения энантиомеров непротеиногенных аминокислот лучше всего в качестве хирального селектора показал себя отрицательно заряженный случайно сульфатированный γ -циклодекстрин, который может использоваться для дальнейшей разработки этого метода.

Таким образом, в последнее время особый интерес для науки представляет исследование объектов растительного происхождения ввиду широты и эффективности их терапевтического действия, что в совокупности с их доступностью и возобновляемостью, делает их прекрасным источником лекарственного сырья.

Исследование богатого компонентного состава растений позволяет находить новые биологически активные вещества, определять растительные хемотипы и проводить контроль за ЛРС. Капиллярный электрофорез отвечает всем требованиям в исследовании ЛРС благодаря своей универсальности и селективности. Это позволяет использовать метод КЭ в определении широкого спектра растительных компонентов: алкалоидов, фенольных кислот, флавоноидов, антоцианов, антоцианидов. Кроме того, высокая адаптивность к техническим усовершенствованиям и возможность модификации (таких как: природа, концентрация и значения рН фонового электролита в КЭ; выбор типа и концентрации поверхностно-активных веществ в микроэлектрохимической хроматографии; использование органических растворителей и добавок, способных образовывать комплексы включения, таких как циклодекстрины; возможность сочетания гибридных механизмов разделения) делает метод КЭ высокоселективным и удобным инструментом исследования ЛРС как в целях количественного определения биологически активных компонентов, так и в целях идентификации растительного сырья [79].

1.3 Состояние исследований по изучению многокомпонентного состава в лекарственных растениях «мелисса лекарственная», «котловник кошачий», «иссоп лекарственный», «змееголовник молдавский» и «лаванда узколистная»

Для эффективного применения ЛРС в лечебных целях и производства препаратов на их основе насыщенность культивируемого сырья биологически активными соединениями должно находиться на высоком уровне, а для этого необходимо иметь представление о составе содержащихся в нем биологически активных соединений. Поэтому контроль за ЛРС является ключевым фактором, требующим постоянное совершенствование инструментальных методов исследования растительных объектов с применением не только традиционных методов, но и современных развивающихся направлений физико-химического анализа. В этом параграфе будут рассмотрены характеристики, свойства и анализ литературных источников по изучению компонентного состава растений «мелисса лекарственная», «котловник кошачий»,

«иссоп лекарственный», «змееголовник молдавский» и «лаванда узколистная», относящихся к семейству Яснотковые (*Lamiaceae*) методами ГХ-МС и КЭ.

Растение «мелисса лекарственная» (*Melissa officinalis* L.).

Мелисса лекарственная – многолетнее травянистое растение семейства Яснотковые (*Lamiaceae*) высотой 30-125 см. Листья скрученные, тонкие, яйцевидной формы с клиновидным основанием, слегка опушенные, зеленые, серовато-зеленые, иногда зеленовато-бурые. Стебли четырехгранные, продольно-желобчатые, слабоопушенные от светло-зеленого до зеленовато-серого цвета, с рыхлой серовато-белой сердцевинкой, толщиной до 3-4 мм. Цветки и бутоны мелкие, белые, желтоватые или розоватые в ложных мутовках, в пазухах верхних листьев, собраны по 3-10 штук в пучки. Плод состоит из 4 односемянных орешков яйцевидной формы, заключенных в спавшуюся чашечку длиной 1,8-2,0 мм. Запах растения слабый (в отличие от котовника кошачьего и змееголовника молдавского), ароматный [80-83].

В диком виде мелисса распространена в Средней и Южной Европе, на Балканах, в Иране, Северной Африке, Северной Америке, Кавказе, в Средней Азии. В настоящее время мелисса лекарственная культивируется во многих странах, в том числе в России

Сбор травы проводят в фазу бутонизации и цветения. Растения срезают на высоте 10 см от поверхности почвы. При заготовке сырья скошенную массу сушат на воздухе в затененном месте или сушилках при температуре не выше 35-40 °С. Сырье представляет собой собранную в фазы бутонизации и цветения, высушенную траву многолетнего травянистого растения мелиссы лекарственной [80, 81].

Содержание эфирного масла в надземных органах растения колеблется в пределах от 0,02 % до 0,8 %, в листьях тех же образцов диапазон колебания эфирного масла составил 0,39-0,44 %. Наиболее характерными компонентами эфирного масла являются монотерпены цитраль (гераниаль + нераль), гераниол, нерол, цитронеллол, цитронеллаль. Эфирное масло мелиссы содержит также линалоол, геранилацетат, мирцен, п-цимол, β-кариофилленоксид, β-кариофиллен, и др. терпеноиды. Основными соединениями отвечающими за лимонный запах растения являются гераниаль и нераль, а их наличие в эфирном масле совместно с 6-метил-5-гептен-2-оном и β-кариофилленом может использоваться в качестве критерия идентификации [80-82].

Второй группой биологически активных веществ являются фенилпропаноиды, среди которых наиболее характерной является розмариновая кислота. Фенилпропаноиды представлены также этиловым эфиром розмариновой кислоты, кофейной кислотой, хлорогеновой кислотой, п-кумаровой кислотой, феруловой и синаповой кислотами. Среди фенольных веществ вклад в антиоксидантную активность могут вносить флавоноиды – апигенин, космосиин, лютеолин, цинарозид, а также рамноцитрин и изокверцитрин, рамиазин. Кроме того, в сырье содержатся фенолкарбоновые кислоты – гентизиновая, салициловая, п-гидроксibenзойная, ванилиновая, сиреневая, протокатеховая кислоты, а также дубильные вещества и кумарины. Среди стероидов и растений обнаружен даукостерин, а из сапонинов – урсоловая кислота. Витамины представлены следующими соединениями: В1, В2, С, β-каротин. В растении содержатся макроэлементы (калий, кальций, магний, железо) и микроэлементы (марганец, медь, цинк, молибден, хром, селен, никель, ванадий) [80-82].

Мелисса лекарственная – седативное средство, обладающее анксиолитическими, антидепрессивными, спазмолитическими, иммуномодулирующими, противовирусными, антиаллергическими и антимикробными свойствами. Широкий спектр терапевтического действия препаратов мелиссы лекарственной обусловлен содержанием различных биологически активных веществ: выраженный седативный эффект описан для цитронеллала, спазмолитические свойства — для гераниола и цитронеллола. Фенилпропаноиды (розмариновая, кофейная, хлорогеновая и другие гидроксикоричные кислоты) следует рассматривать как биоактивные вещества, ответственные за противовирусные, иммуномодулирующие, антигистаминные, антиоксидантные и антимикробные свойства субстанций данного растения [80-83].

Мелисса лекарственная – одно из самых популярных лекарственных растений из сырья которой производится свыше 300 различных препаратов. В Российской Федерации наиболее известны настой, а также зарубежные препараты: «Ново-пассит», «Персен» и «Нервофлукс». Показаниями к применению препаратов травы мелиссы лекарственной являются: неврозы, нейроциркуляторная дистония по гипертензивному типу, мягкая форма артериальной гипертензии, легкие формы ИБС, тахикардии, острые и хронические желудочно-кишечные заболевания, дискинезии, дисбактериоз,

ферментопатии, метеоризм; острые и хронические воспалительные заболевания органов дыхания (бактериального и вирусного генеза); экзема, дерматиты, сопровождающиеся зудом, трофические язвы, нарушения менструального цикла, климактерические расстройства, токсикозы беременности; иммунодефицитные состояния. Мягкий седативный эффект препаратов Melissa лекарственной, широта терапевтического действия, отсутствие побочных эффектов позволяет рекомендовать лекарственные средства на основе данного растения для широкого применения в детской и гериатрической практике [80-83].

Несмотря на широкое использование в лечебных целях Melissa лекарственная официально была включена в Государственную фармакопею РФ только в 2018 году в XIV издании [84]. До этого времени существовала отдельная ФС 42-3645-98, по которой проводилась стандартизация сырья при помощи микроскопии и по числовым показателям содержания компонентов эфирного масла после перегонки с водяным паром. В актуальном XV издании Фармакопеи РФ [53] подлинность и качество сырья Melissa лекарственной регламентируется ФС.2.5.0084 и помимо микроскопического исследования проверяется по содержанию лютеолин-7-глюкозида (качественно) и сумме фенилпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту (не менее 2 %) методами ТСХ и спектрофотометрии.

Melissa лекарственная имеет широкое официальное признание в мировых фармакопеях. Европейская Фармакопея [85] содержит монографию «*Melissae folium*» (Листья Melissa) с описанием способа идентификации растения по содержанию розмариновой кислоты. Британская травяная фармакопея [86] и Британский травяной компендиум [87] содержат информацию о Melissa. Германская фармакопея [88] традиционно содержит описание Melissa лекарственной, где, помимо прочего, были описаны методы идентификации подвидов для предотвращения фальсификации сырья. Кроме того, давняя известность Melissa лекарственной в Германии подтверждается известными растительными препаратами выпускаемыми и по сей день. В качестве примера можно привести растительное лекарственное средство «Klosterfrau Melisengeist», созданное в 1850-х годах, которое содержит в своем составе Melissa лекарственную. Американская травяная фармакопея [89] в 2022 году выпустила

монографию и терапевтический компендиум на лист и надземные части мелиссы в рамках инициативы «Monographs Without Borders». При его разработке использовались методы ВЭЖХ, разработанные для Европейской Фармакопеи.

Наличие статей по мелиссе лекарственной в ключевых фармакопейных стандартах отражает её общепризнанный терапевтический потенциал и длительную историю безопасного применения в медицине.

Авторами обзорной статьи [90] были проанализированы и обобщены данные из научных публикаций, посвящённых исследованию компонентного состава мелиссы лекарственной методами ГХ-МС и ВЭЖХ, а также с применением различных техник получения экстрактов и эфирных масел в том числе с применением сверхкритически-флюидного диоксида углерода. Таким образом в состав мелиссы лекарственной входят следующие компоненты: монотерпены — цитронеллаль, цитраль (представленный смесью изомеров: гераниаль и нераль), линалоол, гераниол, нерол, цитронеллол, метилцитронеллат, лимонен, α - и β -пинен, β -мирцен, цис- и транс-оцимен, терпинен-4-ол, α -терпинеол, изопулегол, пулегон, ментон; сесквитерпены — β -кариофиллен, кариофилленоксид, гермакрен D, δ -кадинен, γ -кадинен, копаен, β -элемен, β -гуайен, β -боурбонен. Кроме того, в листьях мелиссы лекарственной идентифицированы: фенольные кислоты (розмариновая, кофейная, феруловая, п-кумаровая, галловая, хлорогеновая, сальвиановая кислота A, гидроксикоричные кислоты), флавоноиды (лютеолин и его производное лютеолин-3'-О-глюкуронид, кверцетин, кверцитрин, рутин, нарингин, гесперидин, нарингенин, гесперетин, эриодиктиол-7-О-глюкозид). Цитраль (гераниаль + нераль) и цитронеллаль и розмариновая кислота отмечены авторами как наиболее распространённые компоненты эфирного масла мелиссы. Среди флавоноидов только лютеолин-3'-О-глюкуронид присутствует во всех рассмотренных работах. Столь высокое многообразие вторичных метаболитов мелиссы лекарственной обосновывает её широкий спектр фармакологической активности.

Авторами работы [91] использовался метод ПФА-ТФМЭ в сочетании с ГХ-МС для анализа летучих соединений мелиссы лекарственной, лаванды узколистной, мяты перечной, мяты колосистой и душицы сирийской и др., собранных в Ботаническом саду Аданы и Османии (Турция). Измельчённые образцы растения гомогенизировали с 5

молярным раствором CaCl_2 для усиления ионной силы и десорбции летучих компонентов, экстракцию проводили на волокне PDMS (100 мкм) с последующей термодесорбцией в испаритель хроматографа. Разделение осуществляли на кварцевой капиллярной колонке DB-Wax (30 м × 0,25 мм × 0,5 мкм) в режиме программирования температуры от 40 до 200 °C. В результате эксперимента авторы идентифицировали 16 летучих соединений, среди которых доминировал цитраль (65,48%) – альдегид, относящийся к классу монотерпенов и придающий мяле характерный лимонный аромат. Также в значительных количествах присутствовал β-мирцен (23,06%). Другие соединения, такие как кариофиллен, линалоол, изопулегол и нерол, были обнаружены в незначительных концентрациях (< 3%). Авторами отмечено, что из всех исследованных видов растений семейства Яснотковые образец мяле лекарственной содержал наименьшее общее число летучих компонентов (16), однако по содержанию цитраля значительно превосходил другие виды (например, мяту перечную – 2,47 %, майоран – 8,29 %). Сравнение результатов газохроматографического исследования растений из Османии показало, что географическое происхождение и микроклиматические условия влияют на профиль летучих соединений (в частности, в растениях из Аданы выше содержание терпенов и кетонов). Таким образом, авторы подчёркивают, что метод ПФА-ТФМЭ/ГХ-МС является эффективным подходом для анализа термолабильных и низколетучих соединений, которые могут теряться в процессе получения экстрактов и эфирных масел растений.

В исследовании [92] использовались методы ГХ-ПВД и ГХ-МС для исследования состава эфирного масла и настоя мяле лекарственной. В качестве сырья применяли высушенные листья мяле лекарственной (о. Крит), которые разделяли на две части: первую подвергали гидродистилляции в течение 3 часов в аппарате Клевенджера для получения эфирного масла (выход эфирного масла из образца мяле составил всего 0,03%), вторую часть заливали кипящей водой (2 г сырья на 60 мл воды) и настаивали 15 минут при температуре 25°C, фильтровали и экстрагировали н-гептаном. В результате исследования авторами было установлено, что в эфирном масле мяле доминируют кислородсодержащие монотерпены (56,1% от всех идентифицированных компонентов), однако основным индивидуальным

соединением является сесквитерпен кариофилленоксид (14,9%). Среди монотерпенов в наибольших количествах присутствовали гераниаль (12,2%), нераль (11,2%) и цитронеллаль (6,7%). При этом доминирующими компонентами настоя мелиссы лекарственной оказались пальмитиновая (25,5%) и стеариновая (19,5%) кислоты, в то время как характерные для эфирного масла монотерпены (гераниаль, нераль) в настое присутствовали в значительно меньших относительных количествах.

Авторами работы [93] использовался метод ГХ-МС для сравнения содержания фенольных соединений в листьях мелиссы лекарственной органического (без использования синтетических удобрений и добавок) и индустриального (с применением современных синтетических удобрений и добавок) выращивания. Сухие измельченные листья промышленных образцов (Польша) экстрагировали 80% этанолом в течение 3 часов при температуре 22 °С. В полученных экстрактах определяли общее содержание полифенолов, флавоноидов, а также индивидуальный состав фенольных соединений методом ГХ-МС после кислотного гидролиза и дериватизации. Авторами отмечено, что методом ГХ-МС в мелиссе было идентифицировано более 15 фенольных соединений, среди которых доминировали 3,4-дигидроксифенилуксусная и кофейная кислоты, которые являются продуктами гидролиза розмариновой кислоты. Их содержание в органическом образце было на 43% и 50% выше соответственно. Также в мелиссе были обнаружены протокатеховая, гентизиновая, салициловая, 4-гидроксibenзойная, феруловая кислоты, ванилин и 6,7-дигидроксикумарин. В результате авторы делают вывод, что экстракт мелиссы лекарственной органического выращивания содержит вдвое большее количество фенольных биоактивных соединений по сравнению с образцом, который был выращен по индустриальным стандартам.

Исследование различий в компонентных составах мелиссы лекарственной (Богданица, Болгария), выращенных по принципам органического и индустриального типов земледелия также проводилось в работе [94]. Для анализа авторами использовался метод ГХ-МС, при помощи которого исследовались эфирные масла образцов растительного сырья. Разделение проводили на капиллярной колонке НР-5ms (30 м × 250 мм × 0,25 мкм) при линейном программировании температуры: 35 °С в

течение 3 мин, нагрев 5 °C/мин до 250 °C, изотерма в течение 3 мин (всего 49 мин). Полученные результаты показали, что в органически выращенной мелиссе было обнаружено 43 соединения, что составляет 99,7 % от общего содержания органического углерода, в то время как в образцах, выращенных индустриальным способом, было обнаружено только 36 соединений (99,8 % от общего содержания органического углерода). В образцах мелиссы, выращенной индустриальным способом, преобладал β -кариофиллен (16,33%), за которым следовали нераль (13,47%), оксид кариофиллена (6,93%) и цитронеллаль (6,58%). В образцах, выращенных органическим способом, преобладали α -цитраль (гераниаль, 15,36%), гермакрен D (9,99%) и α -копаен-11-ол (3,73%). В завершение авторы подтверждают более выраженный биоактивный потенциал органической мелиссы лекарственной, что связано с тем, что в ней содержится больше вторичных метаболитов, по сравнению с мелиссой выращенной индустриальным способом.

Идентификация одорантов в свежих и высушенных листьях мелиссы лекарственной проводилась авторами статьи [95]. Для этого использовались методы ГХ-МС с ольфактометрией и двухмерной ГХ-МС с ольфактометрией в сочетании с анализом разбавления ароматического экстракта для идентификации. Для подготовки образцов свежие листья мелиссы сушили в течение 20 часов при температуре 40°C и относительной влажности 20% до достижения влажности 10,76%. Ароматические вещества экстрагировали из свежих и высушенных листьев дихлорметаном с последующим удалением растворителя методом упаривания. Разделение проводили на капиллярной колонке DB-FFAP (30 м $\times$ 0,32 мм $\times$ 0,25 мкм) в режиме программирования температуры (от 40 до 240°C). В результате было идентифицировано 32 одоранта в свежих листьях и 35 одорантов в высушенных листьях. В свежих листьях наиболее высокие факторы разбавления (FD 2187) имели цитронеллаль, гераниаль, нераль, геранилацетат, гераниол, (Z)-3-гексеналь и неизвестное соединение с мыльно-цитрусовым запахом, что говорит об их существенном вкладе в аромат мелиссы лекарственной. В высушенных листьях также с высокими FD-факторами (до 2187) были обнаружены цитронеллаль, гераниаль, нераль, геранилацетат, гераниол и аналогичное неидентифицированное соединение. Также авторы отмечают, что сушка

привела к появлению новых одорантов, отсутствовавших в свежих листьях: (Z)-4-гептеналь (водорослевый, FD 9), (E,Z)-2,6-нонадиеналь (огуречный, FD 243), бутановая кислота (сырный, FD 9) и β -ионон (фиалковый, FD 9). Авторы связывают появление водорослевого и соломистого посторонних запахов в высушенных листьях, подтверждённое сенсорным анализом 11 обученных дегустаторов, с накоплением (Z)-4-гептеналя и (E,Z)-2,6-нонадиеналя и с изменением соотношения метионаля и (Z)-1,5-октадиен-3-она. Таким образом, исследование впервые показывает молекулярные основы изменения аромата мяты при сушке, что может применяться в исследовании сушеного растительного сырья.

В работе [96] использовался метод ГХ-МС для анализа химического состава петролейно-эфирной фракции надземной части мяты лекарственной, собранной в Египте (Каир). Сухое растительное сырьё экстрагировали 95% этанолом при комнатной температуре с последующим упариванием полученного экстракта, который затем фракционировали этилацетатом и подвергали вакуумной жидкостной хроматографии на силикагеле с градиентным элюированием (петролейный эфир $\rightarrow$ этилацетат $\rightarrow$ метанол) с последующим разделением на омыляемую (жирные кислоты, переведённые в метиловые эфиры) и неомыляемую фракции. Анализ проводили на капиллярной колонке RTX-5ms (30 м $\times$ 0,25 мм $\times$ 0,25 мкм) в режиме программирования температуры от 70 до 220°C. В результате авторами были идентифицированы 7 жирных кислот (в виде метиловых эфиров) в омыляемой фракции, среди которых доминировала пальмитиновая кислота (38,95%), а также присутствовали линоленовая (10,46%), линолевая (8,68%), стеариновая (6,33%), арахидовая (6,35%), миристиновая (5,14%) и бегеновая (4,78%) кислоты. В неомыляемой фракции авторами было идентифицировано 10 соединений, преимущественно терпеноидной природы: метил коммат А (пентациклический тритерпен, 35,35%), фитол (дитерпеновый спирт, 23,32%), стигмаст-5-ен-3- β -ол (β -ситостерол, 14,34%), сквален (1,72%), норолеан-12-ен (9,82%), обтузифолиол (3,46%), мортенол (3,36%), 13,27-циклоурсан-3-ол (2,81%), лонгифоланальдегид (1,91%) и дигидроактинидиол (1,36%). Авторы обращают внимание, что все идентифицированные соединения впервые обнаружены для рода *Melissa*. Ранее антимикробные свойства мяты связывали преимущественно с

фенольными соединениями (розмариновая, кофейная кислоты, лютеолин), однако данное исследование демонстрирует, что неполярная фракция, содержащая жирные кислоты, фитол, β -ситостерол и пентациклические тритерпены, также проявляет значительную антибактериальную и противогрибковую активность, что подтверждает народное использование мелиссы как противоинфекционного средства.

В исследовании [97] для комплексного анализа вторичных метаболитов в образце мелиссы лекарственной (Болонья, Италия) применялись методы ПФА-ТФМЭ/ГХ-МС высокого разрешения с двумерной хроматографией и ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием. В высушенных и измельчённых листьях растения методом ГХ-МС анализировали летучие органические соединения (ЛОС), экстрагированные волокном DVB/CAR/PDMS (2 см) при температуре 60°C в течение 10 мин с последующей десорбцией в испарителе хроматографа. Разделение проводили на капиллярной колонке DB-InnoWAX (50 м $\times$ 0,20 мм $\times$ 0,40 мкм) в режиме программирования температуры от 40 до 260°C, для количественного определения основных ЛОС дополнительно использовали жидкостную экстракцию гептаном (ультразвук 15 мин + перемешивание 24 ч). Для определения фенольных соединений высушенное сырьё экстрагировали водой (50 мл на 2,5 г сырья, 60 мин при 75°C) и анализировали методом ВЭЖХ на колонке Luna C18 (250 $\times$ 4,6 мм, 5 мкм) в градиентном режиме (подвижная фаза: вода с pH 3,2 (муравьиная кислота) – ацетонитрил). В результате авторами было идентифицировано до 50 ЛОС (монтерпены – 15 соединений, 71,91% от общего содержания; сесквитерпены – 8 соединений, 19,01%). Доминантными по содержанию оказались цитронеллаль (27,54%), α -цитраль (гераниаль, 25,00%), β -кариофиллен (9,24%) и β -цитраль (нераль, 7,61%). Количественное определение (методом жидкостной ГХ-МС) показало содержание: цитронеллаль – 119,2 мг/кг (в пересчёте на цитраль), α -цитраль – 109,7 мг/кг, β -цитраль – 39,7 мг/кг, β -кариофиллен – 74,3 мг/кг (все значения в пересчёте на сухую массу). Суммарное содержание цитраля (α + β) составило 149,4 мг/кг, что превышало содержание цитронеллала. Методом ВЭЖХ в водном экстракте была идентифицирована розмариновая кислота (32,4 мг/г) как основное фенольное соединение, а также неопределённый флавоон (предположительно, производное лютеолина) в количестве 1,7 мг/г. Также авторами работы отмечено, что

методом двухмерной хроматографии было детектировано 417 пиков, из которых после вычитания фона идентифицировано 203 индивидуальных летучих соединения, при этом сесквитерпены, монотерпены и кислородсодержащие монотерпены образовали четко разделённые группы. Таким образом, авторы демонстрируют, что комбинация одномерной и двухмерной хроматографии с масс-спектрометрией в совокупности с ВЭЖХ позволяет провести углублённую оценку содержания вторичных метаболитов мелиссы для последующей стандартизации сырья и производства фитокомплексов.

В работе [98] использовались методы ГХ-МС и ВЭЖХ-МС для определения компонентного состава экстрактов мелиссы лекарственной, собранной в провинции Анталья (Турция). Растительное сырьё экстрагировали смесью метанол–хлороформ (1:1) при комнатной температуре с последующим фильтрованием и упариванием растворителя на роторном испарителе. Жирные кислоты и летучие компоненты анализировали методом ГХ-МС (на кварцевой капиллярной колонке HP-5ms) после омыления и этерификации, а фенольные соединения при помощи метода ВЭЖХ-МС (ZORBAX SB-C18, градиент ацетонитрил–вода с 0,1% муравьиной кислоты). В результате исследования авторами было установлено, что основным компонентом жирных кислот в экстракте мелиссы является линоленовая кислота (43,39%), также в значительных количествах присутствовали пальмитиновая (25,39%), линолевая (13,99%) и стеариновая (6,32%) кислоты. При анализе фенольного состава методом ВЭЖХ-МС идентифицировано 25 соединений, среди которых доминировали флавоноиды эупаторин (1403,9 усл. ед.) и диосмин (263,95 усл. ед.). Кроме того, в экстракте обнаружены хлорогеновая, кофейная, феруловая, салициловая, протокатеховая и другие фенольные кислоты, а также рутин, гесперидин, апигенин, кверцетин и мортин. Также ими отмечено, что эупаторин (цитотоксический флавоноид) и диосмин (вазопротекторное и противовоспалительное средство) присутствуют в мелиссе в очень высоких концентрациях, что, по мнению авторов, объясняет противораковую активность этого растения. В результате авторы делают вывод, что мелисса лекарственная является ценным источником биологически активных фенольных соединений и полиненасыщенных жирных кислот.

Авторами статьи [99] использовался метод КЭ для исследования продуктов на основе мелиссы лекарственной (*Melissa officinalis* L.) и выявления их фальсификации котовником кошачьим (*Nepeta cataria* L.). Образцы чаёв (водных извлечений), настоек, экстрактов, а также коммерческого косметического продукта на основе мелиссы анализировали после соответствующей пробоподготовки (экстракция, центрифугирование, фильтрация, разведение) без дополнительной стадии парофазной экстракции. Электрофоретическое разделение проводили в фоновом электролите 20 mM тетрабората натрия (pH 9,2) при напряжении 25 кВ и температуре 25 °С, детектирование осуществляли при настройках длин волн 198 и 203 нм. В результате в образцах авторами было идентифицировано и количественно определено 8 фенольных соединений: розмариновая, кофейная, феруловая, 4-гидроксикоричная, коричная, 4-гидроксикумаровая кислоты, а также 3-ацетилкумарин и 6-гидроксикумарин. Также ими отмечено, что розмариновая кислота является важным маркерным соединением для выявления фальсификата: в образцах коммерческой мелиссы содержание розмариновой кислоты не соответствовало требованиям Фармакопеи, либо она не обнаруживалась, что, по их мнению, указывало на подмену сырья или низкое качество продукта. Дополнительно в электрофореграммах образцов, содержащих котовник, отсутствовали характерные для мелиссы пики других фенольных кислот.

Растение «котовник кошачий» (*Népetá catária* L.).

Котовник кошачий (кошачья мята) — многолетнее травянистое растение семейства Яснотковые высотой 40 – 100 см. Корень деревянистый, ветвистый; корневище не выражено; стебель крепкий, прямостоящий или у основания восходящий, коротко мягко пушистый от простых, белых, вниз загнутых волосков, ветвистый; ветви облиственные, фертильные, большей частью недлинные; листья треугольно-яйцевидные, с сердцевидным основанием, острые, крупнозубчатые, с обеих сторон коротко опушенные, снизу много гуще, и потому сероватые, под конец иногда почти голые; стеблевые листья 2 – 8 см длины и 1,2 – 4 см ширины, все черешчатые; черешки пушистые, у нижних листьев немного или до полутора раз короче пластинки; верхние полужонтики маловетковые, плотные, почти сидячие, более или менее скученные, нижние на более длинных цветоносах до 1,5 – 2 см длины; прицветники линейно-

шиловидные, короче чашечки; цветоножки короткие, 1 – 1,5 мм длины; орешки коричневые, эллипсоидальные, размером 1,3 – 1,5 мм, гладкие. Цветёт в июне - июле, плодоносит с июля [81]. Произрастает на лугах, по опушкам, в лесах, в зарослях кустарников, по берегам рек, но главным образом на сорных местах, на полях, огородах, в садах, по канавам, в горах в среднегорном и субальпийском поясах на луговых склонах. Встречается в Европе и европейской части России, на Кавказе, в Западной Сибири, изредка в Дальнем Востоке, в Средней Азии [81].

Растение обладает хозяйственной ценностью и культивируется во многих странах, в том числе и России, в качестве эфирноносного и медоносного растения. Котовник содержит эфирное масло, которое используется в парфюмерном производстве.

Ключевым и самым известным компонентом эфирного масла котовника является 4αα,7α,7αα-непеталактон – монотерпеновый лактон, который придает растению специфический аромат, привлекающий кошек. Надземные части котовника содержат до 3 % эфирного масла, в котором присутствуют цитронеллол, гераниаль, гераниол, 1,8-цинеол, нерол, лимонен и β-пинен, β-кариофиллен, кариофиллен оксид. Из нелетучих соединений в составе котовника кошачьего присутствуют розмариновая, хлорогеновая, кофейная, феруловая, цикориевая, кафтаровая, фазеловая, кофеилтартроновая кислоты, а также флавоноиды апигенин, лютеолин, тилианин, линарин, цинарозид [100-102].

Исследования показывают, что котовник кошачий оказывает спазмолитическое, бронхолитическое, седативное, анксиолитическое, потогонное и жаропонижающее воздействие, снижает тревожность, нормализует артериальное давление, кроме того, обладает антиоксидантными и противовоспалительными свойствами [100-104]. Котовник кошачий употребляется против простудных заболеваний, гастрита, при коликах, диарее, кашле, астме, анемии и других заболеваниях [81, 100-104]. Имеются указания, что корни котовника кошачьего содержат вещества, сильно раздражающие нервную систему человека и животных [81, 105].

В отличие от мелиссы лекарственной, котовник отсутствует в Фармакопее РФ и других стран мира. Это растение входило в Национальную Фармакопею США и Британии приблизительно до середины XX века, после чего было исключено из перечня

лекарственных растений вместе со многими другими видами по причине массового перехода медицины на синтетические лекарственные средства, однако котовник не утратил своей известности и по прежнему описывается в растительных справочниках стран мира в качестве народного лечебного средства [86, 87, 106]

Котовник кошачий похож на мелиссу лекарственную не только своим внешним видом, но и компонентным составом (с разницей в соотношениях основных компонентов), поэтому применение котовника кошачьего допускается наряду с мелиссой лекарственной [82] и его активно культивируют в России и других странах и применяют в лечебных целях, в качестве БАД и как сырье для производства эфирного масла. Поскольку котовник является эфирномасличным растением, его изучение, в настоящее время, особенно интересно для отечественной фармакогнозии ввиду необходимости поиска новых источников сырья для выделения ценных лекарственных компонентов, в число которых входят природные терпены, фенольные кислоты и флавоноиды, которыми богат котовник кошачий. Это позволит не только упростить получение ценных природных препаратов, но и позволит досконально изучить лечебные свойства и сделать вывод о возможности внесения этого растения в перечень официальных.

В работе [101] исследовались эфирное масло и экстракт котовника кошачьего (Крым) полученные способом гидродистилляции на аппарат Гинзберга в течение 1 часа и экстракцией 50 % этиловым спиртом (1:20, в течение 10 суток при комнатной температуре), соответственно. Анализ летучих соединений в экстракте проводили методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на приборе Agilent Technology 6890 с масс-селективным детектором на колонке HP-1 (30 м × 0,25 мм) в режиме программирования температуры от 50 до 250 °C со скоростью 4 °C/мин. Фенольные соединения анализировали методом ВЭЖХ на приборе Agilent Technologies 1100 с диодно-матричным детектором. В результате в водно-этанольном экстракте авторами идентифицировано 15 летучих компонентов, среди которых доминирующими являлись: непеталактон (33,81 %), цитронеллол (33,13 %) и гераниаль (10,45 %). Также в значительных количествах присутствовали гераниол (7,96 %) и кариофиллен оксид (6,19 %). В меньших количествах обнаружены: уксусная кислота (2,70 %),

цитронеллаль (1,60 %), фенилацетальдегид (1,10 %), фотоцитраль А (0,84 %), 6-метил-5-гептен-2-он (0,70 %), геранилформиат (0,56 %), кариофиллен (0,50 %), миристиновая кислота (0,35 %) и 6-метил-3,5-гептадиен-2-он (0,23 %). Среди фенольных соединений в экстракте идентифицированы гидроксикоричные кислоты (хлорогеновая, 4-кофеилхинная, 5-кофеилхинная кислоты) и флавоноиды (гликозиды апигенина и лютеолина). Доминирующими фенольными компонентами являются хлорогеновая кислота (около 50 % от суммы фенолов) и апигенин-7-дигликозид (22,5 %). Таким образом, авторы заключают, что исследованный образец котовника кошачьего характеризуется высоким содержанием непеталактона, цитронеллола, гераниала, хлорогеновой кислоты и гликозидов флавонов, что обуславливает его биологическую ценность и перспективность для использования в пищевой, косметической и лечебно-профилактической продукции.

Метод ГХ-МС использовался в работе [107] для анализа пяти экстрактов надземной части котовника кошачьего, собранного в регионе Сват (Гималаи, Пакистан). Растительное сырьё экстрагировали методом мацерации (24 – 48 часов при комнатной температуре) пятью растворителями разной полярности: метанолом, этанолом, водой, ацетоном и гексаном. Газохроматографическое исследование проводили при программировании температуры: 45 °С (3 мин) – нагрев 8 °С/мин до 250 °С. В результате авторами суммарно было идентифицировано 247 известных метаболитов и 127 неидентифицированных соединений во всех экстрактах. Наибольшее количество идентифицированных метаболитов содержали водный (79) и ацетоновый (79) экстракты, тогда как метанольный экстракт показал наибольшее количество неопознанных соединений (48). Наиболее распространёнными соединениями в экстрактах были: в метанольном – 1-изопропилциклогексен-1 (27,38 %) и бицикло[2,2,1]гептан-2-он (20,44 %); в этанольном – α -линоленовая кислота (27,31 %) и 1-изопропилциклогексен-1 (25,85 %); в водном – 1-изопропилциклогексен-1 (22,39 %), 7-метилгексагидроциклопента[с]пиран-1-он (5,40 %); в ацетоновом – 1-изопропилциклогексен-1 (29,55 %), кариофиллен оксид (6,87 %) и камфора (6,37 %); в гексановом – камфора (6,81 %), фталевая кислота (8,55 %), дибутилфталат (5,88 %). Также ими отмечено, что в метанольном и этанольном экстрактах идентифицированы

такие биологически активные соединения как бетулин (противоопухолевое), урсоловая кислота (противовоспалительное, до 0,72 %), фитол (антимикробное, до 3,07 %), кумарин (до 2,94 %), α -амирин (2,69 %), β -амирин (0,76 %), β -ситостерол (до 13,32 %), стигмастерол (до 0,63 %), а также эвгенол в различных концентрациях. Сравнительный анализ показал, что полярные растворители (метанол, этанол, вода) извлекают преимущественно фенольные соединения и их гликозиды, тогда как неполярные (гексан) — терпены и жирные кислоты. Таким образом, по результатам исследования видно, что использование растворителей разной полярности позволяет получить комплексный профиль котовника кошачьего, включающий как известные, так и ранее не идентифицированные соединения, что расширяет представления о химическом составе этого растения.

Авторами статьи [108] использовался метод ГХ-МС для определения химического состава эфирного масла надземной части (стебли, листья, цветки) котовника кошачьего, собранного из 15 природных популяций в провинциях Йезд, Керман и Кохгилуйе (Иран). Анализ проводили на приборе Agilent 7890A на колонке HP-5MS (30 м $\times$ 0,25 мм $\times$ 0,25 мкм) в режиме программирования температуры (40 °C (1 мин), затем нагрев 5 °C/мин до 280 °C). Идентификацию компонентов проводили по библиотекам NIST и Wiley, а также по литературным данным. В результате суммарно было идентифицировано 27 компонентов эфирного масла. Основным классом соединений во всех образцах были изомеры непеталактона, составлявшие большую часть эфирного масла. Также в значительных количествах присутствовали β -кариофиллен, кариофиллен оксид, α -пинен и β -пинен. Сравнительный анализ восьми популяций выявил значительные различия в составе эфирного масла. Например, содержание 1,8-цинеола варьировало от 0 до 9,1 %; содержание β -кариофиллена — от 0,5 до 0,8 %; содержание 2-метокси-*p*-крезола — от 0,5 до 9,1 %. В некоторых популяциях были обнаружены пиперитенон и пиперитеноноксид, отсутствовавшие в других образцах. Также авторы выделяют, что в отличие от многих других видов рода котовника, во всех изученных образцах котовника кошачьего доминируют изомеры непеталактона, тогда как 1,8-цинеол присутствует в следовых количествах. Авторы связывают выявленные межиндивидуальные различия с экологическими условиями

местообитаний (влажность, температура, высота над уровнем моря, почвенные и географические факторы), а также с генетическими особенностями популяций. Таким образом, проведённое исследование подтверждает, что непеталактоны являются маркерными соединениями для котовника кошачьего, однако их относительное содержание существенно варьирует в зависимости от происхождения образца.

В работе [109] методом ГХ-МС авторы определяли химический состав эфирного масла надземной части котовника кошачьего (Джамму, Индия). Разделение проводили на колонке Ultra DB-5 (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) при программировании температуры (нагрев 3 °C/мин от 60 до 210 °C, затем нагрев 8 °C/мин до 280 °C. По полученным данным авторами было определено 13 соединений, составляющих 97,4 % от общего состава эфирного масла. Основным компонентом эфирного масла котовника кошачьего оказался цис-непеталактон (69,78 %). Также в значительных количествах присутствовали: метиловый эфир (14,0 %), непеталактон (10,4 %). Также авторы отмечают, что в отличие от более ранних исследований эфирного масла котовника кошачьего из Северо-Западного Пакистана, где основными компонентами были 1,8-цинеол (21,0 %), гумулен (14,4 %) и α-пинен (10,4 %), в изученном индийском образце эти соединения практически отсутствуют, что авторы связывают с географическими и экологическими различиями мест произрастания.

Авторы статьи [110] методом ГХ-МС определяли компонентный состав эфирного масла котовника кошачьего, полученного способами гидродистилляции и паровой дистилляции. Разделение осуществляли на капиллярной колонке HP-5MS (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) с использованием двух различных температурных программ (А: 6 °C/мин, от 40 °C до 230 °C, затем 30 °C/мин до 280 °C; В: 30 °C/мин от 50 °C до 60 °C, затем 5 °C/мин до 180 °C, и 10 °C/мин до 280 °C) для оптимизации разделения. В результате было установлено, что основной компонентный состав эфирного масла в обоих методах экстракции представлен монотерпеновыми спиртами: (R)-(+)-β-цитронеллол (25,2–39,3 %) и гераниол (27,8–32,9 %), а также монотерпеновыми альдегидами: гераниаль (20,9–22,3 %) и нераль (14,5–15,4 %). Выход масла при паровой дистилляции (1,5 %) был выше, чем при гидродистилляции (0,5 %). Однако при паровой дистилляции содержание альдегидов (нераль + гераниаль) было

значительно ниже (18,4 – 19,0 % против 36,9 – 38,7 %), а содержание кариофилленоксида выше (3,0 % против 0,13 %), что авторы связывают с окислением кариофиллена в процессе паровой дистилляции. Также ими отмечено, что температурная программа В позволила идентифицировать значительно больше компонентов: 16 соединений в гидродистилляте (против 8 при программе А) и 27 соединений в пародистилляте (против 12). Среди компонентов, идентифицированных только в масле, полученном паровой дистилляцией обнаружены транс-розеоксид, линалоол, α -терпинеол, геранилформиат, гераниевая кислота, родлинол, тогда как в гидродистилляте были обнаружены: (-)-изопулегол, изо-изопулегол, α -амирин, фарнезол, дигидросквален, α -мирин.

Котовник кошачий вместе с другими видами рода котовников, культивируемых в Литве, исследовался в работе [102] методом ГХ-ПВД и двумерной ГХ-МС для определения состава эфирных масел, полученных методом гидродистилляции. В результате авторами было идентифицировано более 140 летучих соединений во всех исследованных образцах. По результатам исследования было установлено, что котовник кошачий характеризуется высоким содержанием изомеров непеталактона (4 $\alpha\alpha$,7 α ,7 $\alpha\alpha$ -непеталактон и 4 $\alpha\alpha$,7 α ,7 $\alpha\beta$ -непеталактон), тогда как по содержанию 1,8-цинеола и кариофилленоксида он уступает другим видам котовника.

Авторами исследования [100] использовались методы колоночной хроматографии и препаративной ВЭЖХ для выделения и очистки индивидуальных соединений. Анализ фенольного состава проводили методом микроколоночной ВЭЖХ-УФ. В результате было выделено и идентифицировано 31 соединение, включая 24 флавоноида и 7 фенилпропаноидов. Авторами работы впервые обнаружены для вида котовника кошачьего: хризозериол, цирсилинеол, изороифолин, тилианин (акацетин-7-О- β -D-глюкозид), акацетин-7-О-глюкуронид, линарин (акацетин-7-О-рутинозид), сколимосид, а также кофеилвинные кислоты – кафтаровая, цикориевая и фазеловая. Присутствие гликозидов акацетина и кофеилвинных кислот отмечено впервые для рода котовника. Основным компонентом листьев является кофеилтартроновая кислота, содержание которой достигает 75–81% от суммы фенилпропаноидов. Доминирующим флавоногликозидом листьев является лютеолин-7-О-(6"-глюкуроно)-глюкозид, доля

которого составляет 67–100% от общего содержания флавоноидов. Также авторами отмечена специфичность накопления фенольных соединений: в листьях и стеблях доминирует кофеилтартроновая кислота, тогда как в цветках и корнях преобладает розмариновая кислота. Таким образом, авторы делают вывод, что кофеилтартроновая кислота является маркерным соединением котовника кошачьего, а фенилпропаноиды могут рассматриваться как группа действующих веществ.

Растение «иссоп лекарственный» (*Hyssopus officinalis* L.).

Полукустарники, 20 – 80 см высоты; стебли большей частью ветвистые, четырехгранные, почти голые, редко коротко пушистые; листья почти сидячие, ланцетные или линейно-ланцетные, 2 – 4 см длины, 5 – 10 мм ширины, с выдающейся жилкой на нижней стороне листа, по краю остро шершавые от коротких волосков, со слегка завернутыми краями; прицветные листья тупые. Цветки расположены по 3 – 7 в пазухах листьев, в нижней части раздвинутых, часто в однобоких пучках, образуя продолговатые, вытянутые, колосовидные соцветия; прицветники тупые; чашечка часто окрашенная, с ланцетными, заостренными зубцами, равными почти половине трубки; венчик темно-голубой, лиловый, розовый или белый; трубка венчика почти не выдается из чашечки; две тычинки значительно превышают венчик, две несколько короче; орешки трехгранно и продолговато-яйцевидные, около 2,5 мм длины, 1 мм ширины, суженные, с одной стороны темно-коричневые, голые, мелко бугорчатые, с острым ребром [81-83]. Разводится в садах и на огородах, иногда дичает и встречается как сорное, естественно произрастает в Южной Европе, Восточной Сибири, занесен в Северную Америку [81-83].

Лекарственным сырьем служат листовые побеги. Собирают их в начале цветения, срезая только верхние части растения. Сушат пучками в тени или в сушилке при температуре не более 40 °С. Запах сырья скипидарно-камфорный, вкус горьковатый. Травя содержит летучие компоненты пинокамфон, изопинокамфон и пинокарвон, доминирующие по содержанию, а также β -пинен, 1,8-цинеол, лимонен, мирцен, сабинен, миртенол, линалоол, элемол, α -терпинеол, гермакрен D, спатуленол, β -кариофиллен. Из нелетучих компонентов в иссопе лекарственном присутствуют фенольные кислоты – розмариновая, кофейная; флавоноиды – апигенин, лютеолин,

диосмин, гесперидин, гиссопин, рутин, изокверцетин. Кроме того, в его составе присутствуют урсоловая и олеановая кислоты, дубильные вещества и полисахариды [111, 112]. Выход масла из свежих растений 0,07 – 0,29 %, из сухих 0,3 – 0,9 % [81].

Препараты иссопа обладают антисептическим, противопотогонным, противокашлевым эффектом. Стимулируют пищеварение и снимают спазм гладкой мускулатуры желудочно-кишечного тракта. Применяют внутрь как отхаркивающее средство при бронхитах, бронхиальной астме, болях в груди, туберкулезе, а также при обильном потоотделении, климаксе у женщин, хронических воспалительных процессах в желудочно-кишечном тракте и плохом пищеварении. Наружно используется для промывания ран, язв, слизистых оболочек глаз при конъюнктивитах, для полоскания полости рта, глотки, гортани, а также в виде примочек для рассасывания синяков, употребляется в ликерно-наливочном производстве [81-83].

Государственная Фармакопея Российской Федерации действующего XV издания не содержит отдельной фармакопейной статьи на траву иссопа лекарственного. Однако, российскими учеными активно ведутся работы по фармакогностическому изучению и стандартизации этого сырья. Разработан проект нормативной документации на траву иссопа лекарственного, включая методики количественного определения флавоноидов и полисахаридов, а также анатомо-диагностические признаки для определения подлинности сырья [113]. Исследования последних лет направлены на обоснование включения иссопа в отечественную фармакопею [114].

В Германии это растение традиционно применяется в немецкой народной медицине и упоминается в древних монастырских травниках под названием *Eisenkraut*. Иссоп лекарственный был официально включен в перечень стандартизированного лекарственного растительного сырья Французской, Португальской и Румынской фармакопеи, которые в настоящее время полностью интегрированы в Европейскую фармакопею [85].

Авторами обзорной статьи [115] были проанализированы и обобщены данные из научных публикаций, посвящённых анализу различных эфирных масел, иссопа лекарственного методами ГХ-МС. По обобщенным сведениям, авторы делают вывод, что химический состав эфирного масла иссопа лекарственного значительно

варьируется в зависимости от географического происхождения, климатических условий, стадии развития растения, используемой части, времени сбора, метода экстракции и хемотипа. В обзоре представлены данные по образцам из разных стран: из Испании (основные компоненты: 1,8-цинеол 52,89 %, β -пинен 16,82 %); из Турции (пинокарвон 36,3 %, пинокамфон 19,6 %, изопинокамфон 5,3 %, β -пинен 10,6 %, 1,8-цинеол 7,2 %); из Франции (линалоол 49,6 %, 1,8-цинеол 13,3 %, лимонен 5,4 %, β -пинен 3,0 %, β -кариофиллен 2,8 %, при низком содержании пинокамфона и изопинокамфона); из Румынии (линоленовая кислота 63,98 %, пальмитиновая кислота 15,60 %, стеариновая кислота 10,73 %); из Ирана (миртенилацетат 74,08 %, камфора 6,76 %, гермакрен 3,39 %); из Югославии (цис- и транс-пинокамфон, пинокарвон, гермакрен D, бициклогермакрен, элемол, спатуленол); из Польши (изопинокамфон 22,53 – 28,74 %, пинокамфон 11,41 – 17,99 %, β -пинен 6,69 – 12,01 %, элемол 5,02 – 7,57 %, гермакрен D 3,14 – 6,98 %); из Египта (цис-пинокамфон 26,85 %, β -пинен 20,43 %, транс-пинокамфон 15,97 %, α -элемол 7,96 %); из Литвы (изопинокамфон до 33,6 %, пинокарвон до 28,1 %); из Индии (пинокамфон до 64,9 %, β -пинен до 32,4 %). Кроме того, авторы выделяют основные биоактивные компоненты эфирного масла иссопа: β -пинен, пинокамфон и изопинокамфон. Обзор демонстрирует значительную химическую вариабельность эфирного масла иссопа лекарственного, обусловленную множеством факторов, влияющих на соотношение входящих в его состав компонентов.

Метод ПФА анализа в комбинации с ГХ-МС и ГХ-ПВД использовался авторами статьи [116] для определения состава летучих ароматических соединений в свежей наземной части иссопа лекарственного (Валбон, Албания). Навески измельченного сырья (0,3 г) помещали в герметичные вials, термостатировали при температуре 80 °C в течение 5 мин, после чего 1000 мкл паровой фазы вводили в хроматограф. Разделение проводили на капиллярной колонке HP-5ms (30 м $\times$ 0,25 мм $\times$ 0,25 мкм) при программировании температуры от 60 °C до 280 °C с нагревом 20 °C/мин. В результате авторами было идентифицировано 16 летучих ароматических соединений: монотерпеновые углеводороды (8 соединений, 54,46 %), кислородсодержащие монотерпены (3 соединения, 30,04 %), сесквитерпеновые углеводороды (5 соединений, 0,29 %). Доминирующими компонентами являлись β -пинен (48,66 %), цис-пинокамфон

(29,77 %), α -пинен (3,12 %), α -туйен (1,14 %). В меньших количествах присутствуют: камфен (0,51 %), β -фелландрен (0,11 %), транс- β -оцимен (0,69 %), γ -терпинен (0,06 %), терпинолен (0,10 %), гермакрен D (0,10 %), бициклогермакрен (0,15 %). В отличие от данных по эфирному маслу иссопа из Ирана, где доминировали изопинокамфон (38,47 %) и пинокамфон (13,32 %), в исследованном образце основными компонентами являются β -пинен (48,66 %) и цис-пинокамфон (29,77 %), при полном отсутствии пинокамфона и изопинокамфона. В заключение авторы делают вывод, что метод ПФА в комбинации с ГХ-МС и ГХ-ПВД позволяет эффективно анализировать летучие ароматические соединения свежего растительного сырья без предварительной экстракции эфирного масла.

Авторами исследования [117] использовался метод ГХ-МС для изучения компонентного состава эфирного масла, полученного из свежего сырья пятилетних материнских растений иссопа лекарственного сорта «Никитский Белый», а также из трёхлетних растений, выращенных в открытом грунте в аналогичных условиях. Разделение проводили на капиллярной колонке CR-5 ms (30 м $\times$ 0,25 мм $\times$ 0,25 мкм) при программировании температуры от 75 до 240 °C с нагревом 4 °C/мин. В результате авторами было установлено, что доминирующими компонентами в обоих образцах являются бициклические монотерпеновые кетоны: пинокамфон (43,72 % и 43,30 %) и изопинокамфон (24,97 % и 25,88 %). Среди минорных компонентов (содержание >1 %) отмечены: миртенол (5,24 % и 5,09 %), β -пинен (4,20 % и 4,70 %), элемол (4,57 % и 4,40 %), бициклогермакрен (4,60 % и 3,66 %).

Синецветковый сорт крымского иссопа лекарственного «*суапеус*» из коллекции Никитского ботанического сада исследовался авторами работы [118]. Эфирное масло анализировали методом ГХ-МС в условиях идентичных предыдущей работе [117]. В результате чего авторами было идентифицировано 68 компонентов (в образцах собранных в период 2017-2022 гг.), среди которых доминирующим был определен изопинокамфон (50,99 – 70,74 %), тогда как содержание пинокамфона варьировало от 0 до 18,88 %, β -пинена от 1,02 до 8,65%, сабинена от 0,35 до 2,64 %, β -фелландрена до 4,52 %, линалоола до 4,46 %, миртенола до 6,16 %, гермакрена D до 2,83 %, бициклогермакрена до 3,65 %, элемола до 4,52 %. В 2022 году в образце эфирного

иссопа содержание изопинокамфона достигло 70,74 % при полном отсутствии пинокамфона. Авторы отмечают, что содержание изопинокамфона в этом образце не соответствует требованиям международного стандарта ISO 9841 (25 – 45 % для изопинокамфона), что ограничивает использование данной формы в качестве пищевого сырья, но определяет перспективность её использования в медицине (изопинокамфон обладает миорелаксантами и антифунгальными свойствами). При этом авторы делают вывод о том, что сравнение метеорологических условий (температура, осадки) за пять лет с содержанием основных компонентов эфирного масла иссопа лекарственного не выявило устойчивых корреляций, что позволило им предположить генетическую предрасположенность к таким различиям в компонентном составе. Таким образом, выделенная синецветковая форма иссопа лекарственного «суапеус» относится к изопинокамфоновому хемотипу и представляет интерес для фармацевтического использования.

В работе [119] водно-этанольный экстракт иссопа лекарственного (Крым) исследовался методами ГХ-МС для анализа летучих соединений и ВЭЖХ для анализа фенольных соединений. ГХ-МС анализ проводили на колонке НР-1 (30 м × 0,25 мм) в режиме программирования температуры от 50 до 250 °С с нагревом 4 °С/мин. Всего в образцах было обнаружено 38 компонентов, идентифицировано 32. Среди летучих соединений доминируют монотерпеновые кетоны (81,6 %) и монотерпены (7,3 %). Основными компонентами являются: пинокамфон (78,22 %), изопинокамфон (3,21 %) и β-пинен (4,16 %). В меньших количествах присутствуют: β-фелландрен (1,33 %), миртеналь (1,41 %), мирцен (0,78 %), линалоол (0,49 %), α-туйон (0,12 %), β-туйон (0,07 %), β-кариофиллен (0,37 %), гермакрен D (0,88 %), элемол (0,50 %), кариофилленоксид (0,12 %), фитол (0,28 %). Среди фенольных веществ доминирующим компонентом определена розмариновая кислота (169,2 мг/100 г), кроме того, в экстракте определено содержание кофейной кислоты (10,6 мг/100 г), аскорбиновой кислоты (9,50 мг/100 г), каротиноидов (0,66 мг/100 г), идентифицированные производные хлорогеновой кислоты и лютеолина. Таким образом, изученный образец иссопа лекарственного характеризуется высоким

содержанием пинокамфона, изопинокамфона и розмариновой кислоты, что обосновывает его использование в пищевой и лечебно-профилактической продукции.

Компонентный состав эфирного масла двух цветковых форм иссопа лекарственного – белоцветковой и розовоцветковой (Люблин, Польша) изучался в работе [120] методами ГХ-МС (колонка VF-5ms 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) и ГХ-ПВД (колонка DB-5 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) в одинаковых режимах программирования температуры: 50 °С в течение 1 мин, нагрев 4 °С/мин до 250 °С. В результате было идентифицировано 44 компонента в эфирном масле белоцветковой формы и 49 компонентов в розовоцветковой форме. Основным компонентом эфирного масла белоцветковой формы является пинокамфон (51,0 %), также в значительных количествах присутствуют β-пинен (12,4 %), транс-п-мент-2-ен-1-ол (8,1 %), 1,8-цинеол (7,6 %), мирцен (3,9 %), сабинен (3,0 %). В эфирном масле розовоцветковой формы содержание пинокамфона (28,8 %) и изопинокамфона (21,9 %) сопоставимо; также присутствуют β-пинен (9,8 %), изопинокамфон (21,9 %), γ-аморфен (5,2 %), элемол (5,4 %), миртенол (4,7 %), сабинен (2,2 %), бициклогермакрин (3,3 %), γ-аморфен (5,2 %). Также авторами отмечено, что полученные данные подтверждают наличие двух различных хемотипов у иссопа: белоцветковая форма представляет собой пинокамфеновый хемотип, тогда как розовоцветковая форма характеризуется почти равным содержанием пинокамфона и изопинокамфона. Таким образом, по мнению авторов, цветочная форма иссопа является важным фактором, определяющим компонентный состав эфирного масла.

Авторами статьи [121] использовался метод ГХ-МС для определения состава эфирных масел четырёх сортов иссопа лекарственного: «Аккорд», «Голубой», «Дачный лекарь», «Отрадный», интродуцированных в горно-долинной зоне Дагестана (высота 1100 м над уровнем моря). Разделение проводили на колонке SLB-5ms (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм). В результате авторами было установлено, что все изученные сорта относятся к пинокамфеновому хемотипу, с высоким содержанием транс-пинокамфена (25,47 – 37,37 %) и β-пинена (10,76 – 13,07 %). Кроме того, во всех сортах обнаружены в значительных количествах β-фелландрен (5,76 – 9,62 %) и гермакрин D (1,15 – 4,20 %). Метилвый эфир миртенила содержится в количествах 2,07 – 5,26 %.

Сорт «Отрадный» отличается высоким содержанием пинокарвона (21,59 %), отсутствующего в других сортах. Миртенол присутствует в сортах «Аккорд» (2,11 %) и «Отрадный» (1,22 %), но отсутствует в сортах «Голубой» и «Дачный лекарь». β -транс-оцимен и α -элеомол присутствуют только в эфирном масле сорта «Дачный лекарь» (1,47 % и 4,40 % соответственно). При этом в эфирном масле сорта «Голубой» обнаружены такие компоненты, как α -терпинеол (0,71 %), тимол (0,70 %) и цис-пинокамфен (4,40 %), отсутствующие в других сортах.

Методы ГХ-МС и ГХ-ПВД применялись в работе [122] для определения компонентного состава эфирного масла иссопа лекарственного (Абруццо, Италия). Надземную часть в фазу цветения анализировали как в свежем виде, так и после воздушной сушки. В результате авторами было идентифицировано 62 компонента, доминирующим среди которых во всех образцах являлся линалоол (35,3 – 51,2 %), вторым по значимости – метилэвгенол (7,3 – 22,7 %). Из других соединений в эфирном масле присутствуют: (Z)- β -оцимен (5,1 – 5,8 %), (E)- β -оцимен (2,1 – 5,3 %), лимонен (3,7 – 4,4 %), гермакрен D (1,9 – 4,1 %), палюстрол (0,6 – 2,1 %), ледол (0,6 – 2,2 %), β -бурбонен (0,6 – 1,0 %), β -пинен (1,3 – 2,3 %), мирцен (0,9 – 1,1 %), α -пинен (0,9 – 1,2 %), камфен (0,8 – 1,2 %). При сравнении свежего и сухого сырья установлено, что в свежих образцах выше содержание терпеноидов (87,6 % против 79,9 % и 72,3 %) и монотерпенов (63,5 % против 55,2 % и 52,5 %), в то время как в сухих образцах значительно выше содержание метилэвгенола (16,7 – 22,7 % против 7,3 % в свежем). Авторы выделяют, что проанализированный образец иссопа лекарственного относится к итальянскому хемотипу «*aristatus*», для которого характерны линалоол и метилэвгенол, что требует осторожности при промышленном применении, поскольку метилэвгенол ограничен регламентом ЕС 1334/2008, ввиду его канцерогенных свойств.

В работе [123] методом ГХ-МС (колонок Elite-5 MS, 30 м $\times$ 0,25 мм $\times$ 0,25 мкм) и ГХ-ПВД (колонок DB-5, 60 м $\times$ 0,32 мм $\times$ 0,25 мкм) авторы исследовали состав эфирных масел отдельных органов (листьев, цветков и стеблей) иссопа лекарственного (Западные Гималаи, Индия). Анализ проводился в режиме программирования температуры: для ГХ-ПВД – 70 °С, нагрев 3 °С/мин до 250 °С; для ГХ-МС – 60 °С, нагрев 3 °С/мин до 240 °С, затем 5 °С/мин до 270 °С. В результате авторами было

идентифицировано: в эфирном масле листьев 57 компонентов, в масле цветков 44 компонента, в масле стеблей 57 компонентов. Доминирующим компонентом во всех трёх образцах являлся изопинокамфон, содержание которого составило 57,7 % в листьях, 57,3 % в стеблях и 49,7 % в цветках. Вторым по значимости компонентом в цветках являлся пинокарвон (24,9 %), тогда как в листьях и стеблях его содержание значительно ниже (5,5 % и 7,7 % соответственно). Из других компонентов, присутствовавших во всех органах, были идентифицированы: β -пинен (5,7 – 9,3 %), 1,8-цинеол (2,9 – 8,0%), β -фелландрен (1,8 – 3,2 %), миртенилметилловый эфир (2,7 – 3,0 %), миртенол (1,4 – 1,7 %), сабинен (0,8 – 1,9 %), мирцен (0,5 – 1,3 %), пинокамфон (<0,05 – 1,3 %). В изученных образцах содержание β -пинена и пинокамфона оказалось ниже стандартных значений (по ISO 9841), тогда как содержание изопинокамфона в масле цветков находилось в пределах нормы (49,7 %), а в масле листьев и стеблей (57,7 % и 57,3 %) — незначительно превышало верхнюю границу стандарта. Сумма бициклических монотерпеновых кетонов (пинокамфон + изопинокамфон) во всех трёх образцах соответствовала стандартным требованиям. По результатам исследования очевидно, что состав эфирного масла иссопа значительно варьирует в зависимости от органа растения, что необходимо учитывать при заготовке сырья.

Метод ГЖХ-МС использовался авторами работы [111] для определения компонентного состава эфирного масла иссопа лекарственного, культивируемого в Астраханской области (Россия, г. Камызяк). Сырьё (листья, стебли, соцветия) анализировали в свежем и воздушно-сухом виде с применением колонки SPB-1 (30 м × 0,25 мм) в режиме программирования температуры: 60 °C (1 мин) → 70 °C (2 °C/мин) → 90 °C (5 °C/мин) → 180 °C (10 °C/мин) → 280 °C (20 °C/мин). В эфирном масле, полученном из надземной части в фазу цветения, идентифицировано 27 соединений (из 32 обнаруженных). Доминирующим компонентом является изопинокамфон (63,55 %). Также в значительных количествах присутствуют: пинандиол (9,45 %), миртеналь (1,58 %), β -пинен (1,58 %), транс-пинакарвеол (1,41 %), миртенол (1,39 %), кариофиллен оксид (1,42 %). Суммарное содержание кислородсодержащих монотерпенов (кетонов, спиртов, альдегидов) в эфирном масле составило 81,42 %,

монотерпеновых углеводов – 1,77 %, сесквитерпеновых углеводов – 3,21 %, кислородсодержащих сесквитерпенов – 3,72 %. Также авторами отмечено, что в исследуемом образце отсутствуют лимонен, туйоны, линалоол, а содержание β -пинена (1,58 %) значительно ниже, чем в эфирном масле иссопа из Польши (6,14 %) и Индии (18,4 %). Сравнительный анализ показал, что исследованный образец по компонентному составу отличается от иссопа лекарственного из других регионов, что авторы связывают с климатическими и почвенными условиями Астраханской области.

Растение «змееголовник молдавский» (*Dracocéphalum moldavica* L.)

Стебель прямой, коротко опушенный, от основания ветвистый, с длинными, косо вверх направленными ветвями, почти достигающими верхушки стебля, 15 – 50 см высоты; листья на коротких в полтора-два раза короче пластинки черешках, опушенные короткими волосками, продолговато-яйцевидные или продолговато-ланцетовидные, по краям тупозубчатые, при основании усеченные или клиновидно суженные, коротковолосистые, 1,5 – 3 см длины и 0,7 – 1,8 см ширины. Цветки на коротких цветоножках в шестицветковых ложных мутовках, в верхней части сближенных, в нижней расставленных; прицветные листья продолговато-клиновидные, по краям в нижней половине с тонкими и длинными остистыми заострениями; прицветники 8 – 10 мм длины, продолговато-обратноклиновидные, с 4 – 6 длинноостистыми зубцами, усаженными короткими и редкими волосками; чашечка 9 – 11 мм длины, коротковолосистая, двугубая; верхняя губа её до 1/3 надрезана на три широкояйцевидных шиловидно заостренных зубца, нижняя с двумя продолговато-ланцетными, шиловидно заостренными зубцами; венчик 20 – 25 мм длины, белый или голубовато-фиолетовый, снаружи опушенный [81].

Разводится преимущественно в южных районах России, нередко встречается как дикорастущее. Произрастает в Средней Европе, Западной и Восточной Сибири, Дальнем Востоке, также встречается в Китае. Растение разводилось как медонос, но в настоящее время культивируется как эфиромасличное. Эфирное масло получается из всего растения, которое собирается перед цветением и подвергается перегонке с водяным паром. Выход масла — от 0,01 до 0,17%, среди компонентов

входящих в его состав присутствуют терпены – цитраль, геранилацетат, гераниол, нерол, нерилацетат, эстрагол, линалоол, ментол, ментон, β -кариофиллен, спатуленол; фенольные кислоты – розмариновая, 2-гидроксикоричная, кофейная, феруловая; флавоноиды – лютеолин и его гликозиды, апигенин, тилианин, кемпферол, изорамнетин [124-126].

Змееголовник молдавский занимает позицию перспективного, активно изучаемого, но пока официально не признанного в ведущих мировых фармакопеях лекарственного растения. Государственная Фармакопея Российской Федерации XV издания не содержит фармакопейной статьи на траву змееголовника молдавского, однако ситуация находится в активном развитии. Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) активно изучал способы стандартизации змееголовника молдавского [127], а в 2025 году ими был официально разработан проект фармакопейной статьи «Змееголовника молдавского трава» [128]. Этот проект стал результатом обширных исследований, проведённых в соответствии с фармакопейными статьями Государственной Фармакопеи РФ. Учёные установили морфологические и анатомико-диагностические признаки сырья, разработали методику оценки подлинности с использованием розмариновой кислоты в качестве стандартного образца и валидировали методику количественного определения суммы фенольных соединений (при норме не менее 4% в пересчете на розмариновую кислоту). Таким образом, включение змееголовника в следующее издание ГФ РФ является вполне реальной перспективой.

Змееголовник молдавский не входит в фармакопеи европейских стран и США, однако он применяется в качестве народного лечебного средства. Это растение имеет многовековую историю применения в традиционной китайской медицине – змееголовник (известный как *Xiang-qing-lan*) широко применяется для «очищения огня печени», «удаления желудочного жара» и остановки кровотечений. Используется при лечении сердечной недостаточности, артериальной гипертензии, стенокардии, применяется для лечения неврологических расстройств (как седативное средство) и желудочно-кишечных заболеваний [129].

В статье [124] для определения компонентного состава эфирного масла надземной части змееголовника молдавского (Витебская область, Беларусь) авторы применяли метод ГХ-МС (колонок HP-5, 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм). По полученным данным авторами было идентифицировано 17 компонентов из 87 обнаруженных. Основными компонентами эфирного масла являются гераниаль (57,16 %), нераль (26,77 %), геранилацетат (4,12 %), кротоновый альдегид (2,85 %), нерилацетат (1,63 %), 3-метил-3-пентен-2-он (1,16 %), гераниол (1,06 %), 2-этил-транс-2-бутеналь (2,85 %), 6-метил-5-гептен-2-он (0,41 %), 2,4-гексадиеналь (0,62 %), α -копаен (0,54 %), транс-лимоненоксид (0,78 %), β -кариофиллен (0,54 %), ментол (0,31 %), транс-сабиненгидроксид (0,47 %), эстрагол (0,29 %) и гермакрен D (0,70 %). Авторы отмечают, что именно благодаря цитралю (гераниаль+нераль) эфирное масло змееголовника молдавского имеет приятный лимонный аромат, и обладает противомикробным и фунгицидным действием.

В исследовании [130] эфирное масло змееголовника молдавского (Урмия, Иран) получали из растительного сырья, собранного на различных стадиях роста: вегетация, бутонизация, цветение и плодоношение. Полученные масла исследовались методами ГХ-МС и ГХ-ПВД на идентичной колонке (DB-5, 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) в режиме программирования температуры. По результатам эксперимента авторами было идентифицировано 23 компонента, основными из которых на всех стадиях являются геранилацетат (31 – 50 %), гераниаль (16 – 27 %), гераниол (12 – 13,4 %) и нераль (10,7 – 17,3 %). Содержание геранилацетата максимально в фазу бутонизации (50,2 %), тогда как гераниаль и нераль достигают максимума в фазу плодоношения (27,1 % и 17,3 % соответственно). Содержание гераниола оставалось стабильным на всех стадиях (11,97 – 13,40 %). Кроме того, в эфирных маслах присутствовали: сабинен, β -пинен, мирцен, (Z)- и (E)- β -оцимен, линалоол, цис- и транс-лимоненоксид, цитронеллаль, терпинен-4-ол, нерол, метилгеранат, нерилацетат, α -копаен, β -элемен, транс-кариофиллен, гермакрен D, спатуленол. Суммарное содержание монотерпеновых углеводородов максимально в вегетативную стадию (1,72 %), кислородсодержащих монотерпенов — в фазу плодоношения (64,31 %), прочих монотерпенов — в фазу бутонизации (52,38 %).

Таким образом, фенологическая стадия существенно влияет на компонентный состав эфирного масла змееголовника молдавского, что необходимо учитывать при определении срока сбора сырья с максимальным содержанием целевых компонентов.

Методами ГХ-МС и ГХ-ПВД в режиме программирования температуры исследовался змееголовник молдавский, произрастающий в пяти других районах Ирана (Мараге, Тегеран, Исфахан, Хой и Пираншахр) [131]. Из 17 идентифицированных соединений основными во всех образцах являются гераниол (20,1 – 36,4 %), гераниаль (19,7 – 33,9 %), геранилацетат (21,0 – 35,3 %), нераль (0,2 – 16,2 %) и нерилацетат (1,4 – 2,3 %). Содержание компонентов существенно варьировало в зависимости от региона. Максимальное содержание гераниола (36,4 %) и геранилацетата (33,1 %) зафиксировано в Тегеране, максимальное содержание гераниаля (33,9 %) в Пираншахре, максимальное содержание нералья (16,2 %) и геранилацетата (35,3 %) в Исфахане. β -Пинен (0,1 – 1,93 %) присутствовал во всех образцах вместе с сабином (0,1 – 0,6 %), линалоолом (0,76 – 0,98 %), цис- и транс-лимоненоксидом, цитронеллалем и β -кариофилленом (0,21 – 0,51 %). Некоторые компоненты (пренилацетон, октенол, β -кариофиллен, цис-хризантенол) обнаружены только в определённых регионах. Кроме того, авторы использовали метод главных компонент (РСА) для систематизации полученных экспериментальных данных в целях разделения регионов произрастания змееголовника молдавского на группы для упрощения процесса идентификации растений, поскольку географическое положение, климатические условия и свойства почвы существенно влияют на состав эфирных масел.

Еще один образец эфирного масла змееголовника молдавского иранского происхождения (Хорасан-Резави) исследовался в работе [126] методом ГХ-МС (НР-5ms, 30 м $\times$ 0,25 мм $\times$ 0,25 мкм) в режиме программирования температуры. В результате исследования авторами было идентифицировано 70 соединений среди которых гераниаль (25,5 %), эстрагол (16,0 %) и геранилацетат (15,2 %) были основными по содержанию. Также в значительных количествах присутствовали: нераль (9,7 %), цис-фитол (9,7 %), этиллинолеат (1,7 %), спатуленол (1,8 %),

кариофилленоксид (1,3 %), линалоол (1,3 %), нерилацетат (1,2 %) и α -копаен (1,0 %). В дополнение к ГХ-МС анализу эфирного масла авторами проведено исследование экстрактов змееголовника молдавского методом жидкостной хроматографии сверхвысокого давления (ЖХСД) с диодно-матричным и масс-селективным детектированием в результате чего были идентифицированы и количественно определены 37 соединений, главным образом фенольные кислоты: розмариновая, кофейная, 2-гидроксикоричная и 3-гидроксibenзойная.

Авторами статьи [132] использовался метод ГХ-МС для определения состава эфирного масла надземной части змееголовника молдавского, выращенного в коллекционном саду Нови-Сада (Сербия). Разделение проводили на приборе Agilent 6890 (колонка HP-5ms, 30 м $\times$ 0,25 мм $\times$ 0,25 мкм) в режиме программирования температуры: нагрев 3 °C/мин от 60 до 285 °C. В итоге, авторами было идентифицировано 88 соединений (включая 31 неидентифицированное), среди которых идентифицированы гераниаль (29,6 %), геранилацетат (27,2 %), нераль (19,4 %), гераниол (5,4 %), нерилацетат (3,0 %), пиперитон (1,8 %), вульгарон В (1,6 %). В обзоре литературы авторы указывают, что содержание гераниала может варьировать от 9,10 до 42,45 %, нералья – от 10,25 до 43,49 %, геранилацетата – от 0,20 до 40,40 %, гераниола – от 0,50 до 28,14 % в зависимости от условий произрастания.

Компонентный состав эфирного масла, полученного способом гидродистилляции из надземных частей змееголовника молдавского (Египет) разных месяцев сбора с марта до мая, был определен в работе [133] при помощи метода ГХ-МС (колонка TG-WAX MS, 30 м $\times$ 0,25 мм $\times$ 0,25 мкм), который выявил наличие 33 соединений. Доминирующими по содержанию компонентами были: геранилацетат (28,81 %, 27,02 %, 27,81 %), гераниаль (20,42 %, 19,37 %, 19,74 %), нераль (18,36 %, 17,85 %, 17,86 %) и гераниол (16,68 %, 12,66 %, 16,05 %) при первом, втором и третьем сборе растений, соответственно. Среди других соединений были обнаружены: 6-метил-5-гептен-2-он (3,15 %, 1,22 %, 1,08 %), линалоол (2,74 %, 2,67 %, 1,93 %), бициклогермакрин (0,30 %, 1,14 %, 0,49 %), транс-кариофиллен (1,15 %, 2,82 %, 1,31 %); нерол (1,49 %, 3,31 %, 1,88 %) и

нерилацетат (2,79 %, 5,39 %, 4,35 %). В заключение авторы делают вывод о важности выбора времени сбора змееголовника молдавского и для максимизации производства эфирного масла рекомендуют производить заготовку сырья в Египте во время цветения в начале апреля.

В работе [134] методом ГХ-МС (HP-5MS, 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) в эфирном масле змееголовника молдавского (провинция Мазендеран, Северный Иран) было идентифицировано 24 соединения. Доминирующими соединениями являлись: геранилацетат (36,62 %), гераниол (24,31 %), нераль (16,25 %) и гераниаль (11,21 %). Другие компоненты: нерилацетат, β-кариофиллен, лимонен, α-пинен, β-пинен, терпинен-4-ол, γ-терпинен, п-цимен, β-фелландрен, сабинен, камфен, эвкалиптол, линалоол присутствуют в меньших количествах. Также авторы отмечают, что для змееголовника молдавского из Северного Ирана характерен высокий уровень геранилацетата (36,62 %), тогда как в более ранних исследованиях иранских образцов доминировали цитраль (31,14 %) или лимонен (19,8%) и α-пинен (14,4 %).

Помимо метода ГХ-МС, авторами статьи [135] применялись методы ТСХ, ВЭЖХ и ЯМР для комплексного анализа эфирного масла змееголовника молдавского, произрастающего в Египте. В результате чего из 90 зарегистрированных компонентов масла было идентифицировано 44 вещества, содержание которых было наибольшим: геранилацетат (24,93 %), гераниаль (23,67 %), гераниол (14,96 %), нерол (11,0 %), нерилацетат (5,0 %), нераль (3,3 %) и линалоол (1,38 %), а также α-пинен, β-пинен, сабинен, лимонен, 1,8-цинеол, камфора, терпинен-4-ол, α-терпинеол, цитронеллол, метилгеранат). Состав исследованного египетского образца близок к образцам из Ирана [136], но отличается от образцов из Монголии, где доминировали линалоол и карвон.

Метод ВЭЖХ применялся в работе [125] для изучения состава водного экстракта надземной части змееголовника молдавского (Тегеран, Иран). В результате авторами было идентифицировано шесть фенольных соединений: кофейная кислота (42,51 мг/г экстракта), феруловая кислота (1,16 мг/г), лютеолин-7-О-глюкозид (0,66 мг/г), розмариновая кислота (38,97 мг/г), лютеолин (0,30 мг/г)

и апигенин (0,76 мг/г). Некоторые из зарегистрированных компонентов идентифицированы не были (предположительно также гидроксикоричные кислоты и флавоноиды). По результатам исследования авторы делают вывод, что водорастворимый экстракт змееголовника молдавского характеризуется высоким содержанием гидроксикоричных кислот (особенно кофейной и розмариновой) и флавоноидов (преимущественно гликозидов), что объясняет его антиоксидантную активность.

Растение «лаванда узколистная» (*Lavándula angustifolia* L.).

Лаванда узколистная (также колосовая, также лекарственная) представляет собой вечнозеленый полукустарник серо-серебристого цвета, шарообразной формы, высотой 30 – 70 см. Нижние одревесневшие ветви сильно разветвленные, приподнимающиеся, несут многочисленные молодые вегетативные и цветоносные побеги, которые заканчиваются прямостоячими прерывистыми колосовидными соцветиями. Листья супротивные, сидячие, продолговато-линейные, с завернутыми серо-зелеными краями. Цветки собраны по 7 – 10 в каждом узле. Чашечка трубчатая, фиолетовая или голубовато-серая, обильно покрыта ветвистыми волосками и железками. Венчик двугубый, голубовато-фиолетовый, также сильно опущенный. Растение имеет сильный приятный запах. Родина – Средиземноморские страны. Лаванда узколистная культивируется в Краснодарском крае, в Крыму, а также в Грузии и Молдавии [80, 81].

Собирают урожай в период полного созревания растений. Сырье немедленно поступает в переработку во избежание потери эфирного масла. Эфирное масло получают путем перегонки с водяным паром (выход до 1 %) или путем экстрагирования низкокипящим петролейным эфиром (выход 2 – 2,5 %). Для медицинских целей применяют эфирное масло, полученное перегонкой с водяным паром. За рубежом используются также воздушно-сухие цветки, заготовленные в фазу полного цветения и высушенные при температуре не выше 40 °C. Свежесобранные соцветия с остатками стеблей длиной не более 10 см используются в качестве ЛРС. Эфирное масло как продукт переработки используется для производства препаратов [80, 81].

В свежих соцветиях содержится от 0,8 до 3 % эфирного масла, тогда как в листьях масла не более 0,3 %. Основным компонентом эфирного масла цветков лаванды является линалилацетат (35 – 50%). В эфирном масле содержатся также свободный линалоол (20 – 35 %) и его сложные эфиры с другими кислотами – масляной, валериановой и капроновой. Из сопутствующих терпеноидных компонентов в масле обнаружены гераниол, нерол, цитраль, 1,8-цинеол, борнеол, изоборнеол, борнилацетат, камфора, мирцен, оцимен, α -пинен, терпинеол и др. Среди сопутствующих веществ интерес для стандартизации представляют флавоноиды (космосиин) как потенциальные биоактивные компоненты, а также дубильные вещества (до 12 %). В сырье содержатся также антоцианы, органические кислоты, сахара [80, 81].

Лаванда узколистная оказывает антисептическое, спазмолитическое и седативное действие. Лавандовый спирт (1 % спиртовой раствор эфирного масла) входит в состав некоторых линиментов и мазей в качестве антисептического средства. Лавандовое масло является также компонентом аэрозольного препарата «Ливиан», применяемого для лечения ожоговых ран. Лавандовое масло и цветки лаванды (воздушно-сухие) широко используются для ароматизации в парфюмерном производстве. В странах Западной Европы субстанции цветков лаванды (масло, экстракт), в том числе из воздушно-сухого сырья, используются как компоненты для производства седативных средств, причем некоторые из них зарегистрированы в России (нервофлюкс). Разработаны также седативные средства «Седафит», успокоительный сбор № 4 (Самарский государственный медицинский университет) [80].

Лаванда узколистная обладает статусом общепризнанного лекарственного средства с наиболее полным охватом регуляторных стандартов мирового уровня. Действующее XV издание Фармакопеи РФ содержит проект фармакопейной статьи на лаванду узколистую, одобренный Фармакопейным комитетом и экспертной секцией [137]. В ней регламентируется качество как цельного сырья (цветки лаванды), так и эфирного масла, что свидетельствует о признании растения в российской фитофармацевтике.

Лаванда узколистная официально включена в Европейскую фармакопею, причём в нескольких сырьевых формах. Качество регламентировано для цветков лаванды (*Lavandulae flos*) – ещё не распустившихся, высушенных и измельчённых цветков. Также существует отдельная монография на эфирное масло лаванды (*Lavandulae aetheroleum*), получаемое путём паровой дистилляции из свежих цветков и соцветий [85]. Также лаванда узколистная включена в фармакопею Германии [88], где она исторически является признанным лекарственным растением и рекомендуется для перорального применения при расстройствах настроения, беспокойстве, трудностях засыпания, функциональных верхних абдоминальных жалобах, а также для наружного применения в виде ванн при циркуляторных расстройствах.

Метод ПФА-ГХ-МС применялся в работе [138] для исследования компонентного состава эфирного масла и гидролата лаванды узколистной (Тоскана, Италия). Анализ жидкой фазы и паровой фазы эфирного масла проводили на приборе Perkin Elmer Clarus 500 (колонка VF-1) в режиме программирования температуры: от 60 °С до 220 °С с нагревом 6 °С/мин. Термостатирование проб для парового анализа проводили в течение 20 мин при температуре 60 °С для эфирного масла, 80 °С для гидролата. В результате суммарно было обнаружено 25 соединений. Основными компонентами паровой фазы эфирного масла являются линалоол (26,2 %), 1,8-цинеол (18,0 %), α -пинен (17,8 %), камфора (6,9 %), лимонен (6,2 %), камфен (8,9 %), β -пинен (1,2 %), терпинен-4-ол (1,4 %). Основными компонентами жидкой фазы эфирного масла являются линалоол (49,9 %), линалилацетат (17,9 %), 1,8-цинеол (5,7 %), терпинен-4-ол (5,0 %), камфора (3,2 %), борнеол (3,9 %), β -пинен (2,3 %), лимонен (1,2 %), транс- β -оцимен (1,4 %), β -кариофиллен (1,5 %), α -фарнезен (1,2 %). В паровой фазе гидролата лаванды узколистной обнаружены: линалоол (42,9 %), камфора (18,4 %), α -терпинеол (12,6 %), 1,8-цинеол (11,8 %), терпинен-4-ол (8,4 %), борнеол (5,8 %).

Метод ТФМЭ использовался авторами статьи [139] с последующим анализом методом ГХ-МС для определения состава летучих соединений в листьях лаванды узколистной (Турция). Экстракцию проводили на волокне DVB/CAR/PDMS (50/30

мкм, 2 см) при 40 °С в течение 30 мин. Разделение осуществляли на колонке DB-5MS (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) в режиме программирования температуры: изотерма 40 °С (1 мин), затем нагрев 5 °С/мин до 120 °С (2 мин), нагрев 10 °С/мин до 240 °С (3 мин). В результате, авторами было идентифицировано более 30 соединений, основные из которых: 1,8-цинеол (15,10 %), линалоол (11,98 %), гексиловый эфир (10,56 %), гексил-2-метилбутират (7,28 %), лавандулилацетат (6,09 %), камфора (5,51 %), борнеол (3,52 %), геранилацетат (1,64 %), α-мирцен (1,09 %), нерилацетат (1,09 %), цис- и транс-β-оцимен (1,47 %), γ-терпинен (1,70 %). При этом в исследованном образце отсутствуют линалилацетат (традиционно доминирующий компонент во многих образцах лаванды) и α-терпинеол, что авторы связывают с сортовыми особенностями, генотипом, временем сбора, методом экстракции и климатическими условиями региона. Сравнение с другими литературными данными показывает значительные различия в компонентном составе, что подтверждает высокую вариабельность химического профиля лаванды узколистной в зависимости от условий произрастания.

Метод ТФМЭ-ГХ-МС в разных исполнениях также применялся в работе [140] для определения компонентного состава эфирного масла лаванды узколистной. Разделение проводили на колонке HP-5MS (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) при программировании температуры от 60 до 220 °С с нагревом в 6 °С/мин. В результате авторами суммарно было идентифицировано 25 компонентов. Основными компонентами эфирного масла лаванды при этом являются: 1,8-цинеол (до 54,84 %), камфора (до 26,07 %) и борнеол (до 31,22 %). Из других компонентов по результатам эксперимента были определены: α-пинен (4,66 %), камфен (2,9 %), β-пинен (2,62 %), п-цимен (3,51 %), лимонен (2,05 %), изоборнилформиат (2,17 %), куминальдегид (2,27 %), γ-кадинен (1,07 %), валерианол (2,06 %). Авторы отмечают, что микроволновое нагревание при проведении ТФМЭ увеличивает выход кислородсодержащих соединений (особенно 1,8-цинеола и камфоры) по сравнению с традиционной ТФМЭ.

Эфирное масло лаванды узколистной и лаванды широколистной алжирского происхождения исследовалась методом ГХ-ПВД в работе [141]. Анализ проводили

на двух колонках: DB-WAX (60 м × 0,20 мм × 0,50 мкм) и HP-5 (50 м × 0,25 мм × 0,50 мкм). По итогам исследования авторами было идентифицировано 29 соединений в эфирном масле лаванды узколистной (94,07 % от общего состава) и 7 соединений в эфирном масле лаванды широколистной (78,31 % от общего состава). Основными компонентами лаванды узколистной являются линалилацетат (39,33 %) и линалоол (34,19 %), с присутствием в значительных количествах камфоры (5,11 %), борнеола (2,98 %), 1,8-цинеола (2,62 %), лимонена (0,29 %), терпинолена (1,67 %), гексилбутирата (1,53 %), лавандулилацетата (1,00 %), гексилацетата (0,89 %), 3-октанона (0,77 %), β-кариофиллена (0,58 %) и β-фарнезена (0,48 %). Основным компонентом лаванды широколистной является 1,8-цинеол (эвкалиптол, 72,90 %), а также присутствуют лимонен (2,39 %), камфора (1,86 %) и другие компоненты. Как отмечают авторы, лаванда узколистная из Алжира по составу близка к образцам из Румынии, Ирана и Сирии, но с более высоким содержанием линалилацетата.

В исследовании [142] использовались методы ГХ-ПВД и ГХ-МС для определения компонентного состава эфирного масла надземной части лаванды узколистной, культивируемой в Калши (Западные Гималаи, Индия). ГХ-ПВД разделение проводилось на колонке HP-5 (30 м × 0,32 мм × 0,25 мкм) в режиме программирования температуры: нагрев 3°C/мин от 60°C до 220°C. ГХ-МС разделение проводилось на колонке RTX-5 (60 м × 0,32 мм × 0,25 мкм) в аналогичном режиме программирования температуры. В результате авторами было идентифицировано 34 компонента среди которых присутствовали: линалилацетат (39,10 %), линалоол (29,7 %), α-терпинеол (4,35 %), транс-кариофиллен (3,76 %), лавандулол (2,8 %), геранилацетат (1,95 %), борнеол (1,70 %), 1-октен-3-илацетат (1,5 %), транс-сабиненгидрат (1,4 %), кариофилленоксид (1,29 %), лимонен (1,2 %), нерилацетат (1,15 %). Сравнение с образцами из других регионов (Венгрия, Франция, Китай, Кашмир) показало, что эфирное масло из Гархвала сопоставимо с мировыми стандартами. Таким образом, лаванда узколистная, культивируемая в Гархвальских Гималаях, является источником эфирного масла с высоким содержанием линалилацетата и линалоола.

Эфирные масла цветков лаванды, собранных в пяти различных районах Турции, исследовались в работе [143] методами ГХ-ПВД и ГХ-МС в режиме программирования температуры. В результате количество зарегистрированных соединений варьировалось от 48 до 59, в зависимости от образца. Примечательно, что основными компонентами во всех образцах являются линалоол (31,9 – 50,0 %) и линалилацетат (1,8 – 42,0 %). Также в значительных количествах присутствовали: камфора (0,2 – 6,9 %), 1,8-цинеол (0,7 – 13,3 %), α -терпинеол (1,1 – 8,7 %), терпинен-4-ол (0,2 – 14,9 %), борнеол (0,4 – 5,7 %), гераниол (0,3 – 4,6 %), нерилацетат (0,1 – 1,8 %), геранилацетат (0,2 – 3,6 %), β -кариофиллен (0,3 – 3,3 %), (Z)- β -фарнезен (0,1 – 3,2 %), α -бисаболол (0,7 – 1,5 %), α -пинен (0,2 – 0,9 %), лимонен (0,3 – 1,5 %), (E)- β -оцимен (1,2 – 3,1 %), (Z)- β -оцимен (1,1 – 8,0 %), β -мирцен (0,6 – 1,7 %). Полученные результаты указывают на заметное непостоянство состава растительных компонентов в зависимости от района произрастания, что необходимо учитывать при стандартизации сырья.

В работе [144] методом ГХ-МС (ВРХ-5, 30 м $\times$ 0,25 мм $\times$ 0,25 мкм) в режиме программирования температуры исследовали эфирное масло лаванды узколистной (Карадж, Иран). В результате авторами было идентифицировано 37 соединений. В качестве основных компонентов указаны: линалоол (32,11 %), борнеол (15,97 %), 1,8-цинеол (4,89 %) и линалил ацетат (4,85 %), с присутствием α -терпинеола (2,61 %), камфоры (4,07 %), терпинен-4-ола (2,89 %), лавандулил ацетата (3,07 %), кариофиллена (1,07 %), кариофиллен оксида (3,60 %), α -пинена (1,40 %), β -мирцена (1,18 %) и лимонена (1,27 %). Кроме того, в исследовании методом главных компонент (РСА) подтверждено отсутствие фальсификации в трёх коммерческих продуктах эфирных масле лаванды узколистной с низкой корреляцией с образцом котовника мятовидного (*Nepeta menthoides*), который, как говорят авторы, используется для фальсификации. В эфирном масле котовника мятовидного доминировали 1,8-цинеол (60,07 %), о-оцимен (4,58 %), линалоол (4,02 %) и β -пинен (3,40 %), а также присутствовал непеталактон (3,70 %) – характерный маркер этого вида котовников, отсутствующий в лаванде. Таким образом, газохроматографическое исследование в сочетании с хемометрической

обработкой данных является эффективным методом для подтверждения подлинности эфирных масел и выявления фальсификации.

Авторами работы [145] был проведен анализ эфирного масла и экстракта лаванды узколистной (Эрбил, Ирак), полученных способами гидродистилляции и ультразвуковой экстракции в этилацетате. Анализ проводили на приборе Agilent GC-MS (DB-5, 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) при программировании температуры. В результате было идентифицировано 74 соединения в эфирном масле и 40 соединений в этилацетатном экстракте. В качестве основных компонентов эфирного масла авторы выделяют: лавандулилизобутират (52,61 %), линалоол (5,41 %), изовербанолацетат (4,33 %), лимонен-1,2-диол (3,44 %), п-цимен (2,77 %), 1,1,5,6-тетраметилиндан (2,54 %), глобулол (1,94 %), 4-метил-6-гептен-3-он (1,90 %), 4-гидроксигексан-3-он (1,86 %), метиловый эфир пентадекановой кислоты (1,41 %). В этилацетатном экстракте основными компонентами являются: дотриаконтан (8,33 %), линалоол (7,09 %), эвкалиптол (6,42 %), линалилацетат (4,69 %), 1,4-цинеол (4,62 %), транс-линалоолоксид (4,51 %), изоспатуленол (3,78 %), α-терпинен (3,21 %), гексилбутират (2,91 %), трициклен (2,90 %), миртенилацетат (2,74 %), фталевая кислота (2,64 %), γ-терпинен (2,38 %), (Z)-β-оцимен (2,34 %), 3-октанон (2,30 %), α-туйен (2,10 %), мирцен (2,28 %), генеикозан (2,21 %), 4-изопропил-2-циклогексенон (2,01 %). Также авторы отмечают, что состав эфирного масла существенно отличается от ранее опубликованных данных для образцов из Кашмира и Шаклавы (Ирак), что связано с различиями в экологических условиях (температура, высота, влажность, осадки). Оба исследованных продукта (эфирное масло и этилацетатный экстракт) содержат линалоол – ценный компонент для парфюмерной промышленности.

Метод ГХ-МС (HP-5MS, 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) в режиме программирования температуры применяли вторы статьи [146] для компонентного исследования эфирного масла лаванды узколистной испанского происхождения. В результате чего, авторами было идентифицировано 40 соединений, основными из которых являлись линалоол ацетат (37,4 %), линалоол (34,3 %) и (E)-кариофиллен (7,0 %). Среди других компонентов присутствующих в составе эфирного масла

лаванды присутствовали: (E)- β -фарнезен (2,0 %), (Z)- β -оцимен (2,1 %), (E)- β -оцимен (2,5 %), борнеол (2,2 %), 4-терпинеол (1,7 %), α -терпинеол (1,0 %). Авторы делают вывод, что эфирное масло лаванды узколистной характеризуется высоким содержанием линалилацетата и линалоола и обладает перспективными антимикробными свойствами для применения в качестве природного консерванта в пищевых продуктах.

Исходя из рассмотренных литературных источников по исследованию растений семейства яснотковые можно сделать вывод, что они являются востребованными в научной и промышленной среде, и задача определения из состава и свойств для идентификации и определения подлинности является актуальной. При этом наиболее часто используемым методом остается ГХ-МС анализ эфирных масел и экстрактов растений, однако большое разнообразие методик их получения, в совокупности с известным непостоянством компонентного состава самих растений, приводит к тому, что различия в результатах исследований становятся еще значительными. Одним из способов уменьшить влияние пробоподготовки и облегчить этот процесс является использование парофазного анализа, который, как видно по новейшим публикациям, все чаще используется для определения состава летучих компонентов растений. Это позволит унифицировать этап подготовки и минимизировать влияние на итоговый результат исследования.

Что касается определения нелетучих метаболитов рассмотренных растений семейства Яснотковые, то для них метод КЭ уступает ВЭЖХ и его модификациям по частоте применения. Однако, с учетом преимуществ метода КЭ и эффективности его применения для исследования состава экстрактов растений других семейств [65-75, 77-79], представляет интерес исследовать возможность применения этого метода для оценки содержания фенольных соединений в ЛРС семейства Яснотковые.

Для дальнейшего развития методов идентификации и определения подлинности лекарственного растительного сырья необходим способ для структурирования и классификации полученных результатов, который можно

применить для экспрессного определения неизвестных образцов ЛРС. В этом может помочь хемометрическая обработка результатов анализа, которая в последнее время все чаще используется в исследовании многокомпонентных растительных объектов.

1.4 Хемометрическая обработка данных в исследовании многокомпонентных объектов

Хемометрика – это химическая дисциплина, применяющая математические, статистические и другие методы, основанные на формальной логике, для построения или отбора оптимальных методов измерения и планов эксперимента, а также для извлечения наиболее важной информации при анализе экспериментальных данных. Эта дисциплина находится на стыке двух наук – химии и математики – и решает задачи получения и представления химически важной информации из химических данных [147, 148].

Основной объект, с которым работает хемометрика – экспериментальные данные, которые бывают одномерными (например, значение оптической плотности, полученное на монохроматическом фотометре), многомерными (набор из нескольких измерений, относящихся к одному образцу), двух- и более модальные (набор спектров, снятых для I-образцов на J-длинах волн и т.д.) [149].

Основная задача хемометрики заключается в извлечении из данных нужной химической информации. Для иллюстрации рассмотрим следующий идеализированный пример. Пусть есть система, состоящая из смеси трех веществ А, В и С без посторонних примесей, абсолютно точно известны спектры $s_A(\lambda)$, $s_B(\lambda)$, $s_C(\lambda)$ всех компонентов. Под словом «спектры» понимаются любые многомерные данные, например, хроматограммы, где λ – время удерживания. Требуется определить концентрации по спектру смеси $x(\lambda)$, который так же можно получить без погрешностей. Если каждый спектр содержит значения для 30 времен удерживания, то для решения этой задачи можно составить 30 уравнений относительно трех неизвестных концентраций c_A , c_B и c_C :

$$x(\lambda_1)=c_A s_A(\lambda_1)+ c_B s_B(\lambda_1)+ c_C s_C(\lambda_1) \quad \dots \quad x(\lambda_{30})=c_A s_A(\lambda_{30})+ c_B s_B(\lambda_{30})+ c_C s_C(\lambda_{30}).$$

Нужную информацию можно получить, составив только три уравнения, соответствующие любым трем длинам волн. Исходные данные избыточны по отношению к искомой информации.

Если сделать пример более реалистичным, допуская, что все спектры содержат некоторую случайную погрешность, то оценки концентраций по разным тройкам длин волн будут отличаться. Эти оценки можно усреднить и получить концентрации с лучшей точностью. Заметим, что того же можно было бы достичь и с помощью повторных экспериментов. Однако, это путь требует больших затрат сил и времени. Гораздо проще уменьшать неопределенность количественного анализа за счет увеличения числа переменных (каналов, длин волн) в одном единственном эксперименте.

Для выделения полезной информации в хемометрике используются методы сжатия данных. Идея этих методов состоит в том, чтобы представить исходные данные, используя новые скрытые переменные. При этом число новых переменных должно быть существенно меньше, чем число исходных переменных, а потери от такого сжатия должны быть сопоставимы с шумом в данных. Сжатие данных позволяет представить полезную информацию в более компактном виде, удобном для визуализации и интерпретации.

Наиболее популярным способом сжатия данных является метод главных компонент (РСА). С математической точки зрения метод главных компонент – это декомпозиция исходной 2D - матрицы X , т. е. представление ее в виде произведения двух 2D-матриц T и P .

$$X = TP^t + E = \sum_{a=1}^A t_a p_a^t + E, \quad (1)$$

где T – матрица *счетов*; P – матрица *нагрузок*; E – матрица остатков.

Число столбцов t_a в матрице T и p_a^t в матрице P равно эффективному (химическому) рангу матрицы X . Эта величина A называется *числом главным компонент* (РС).

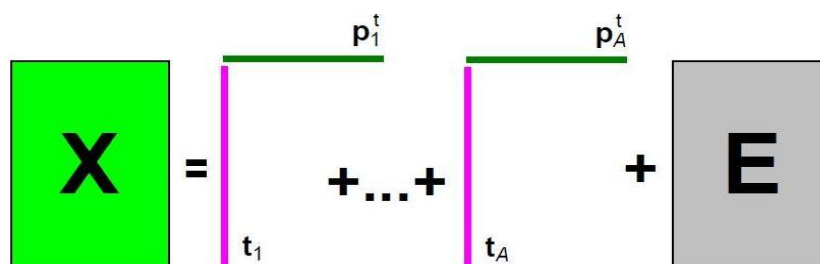


Рисунок 1 – Графическое представление метода главных компонент

Для иллюстрации метода PCA вернемся к примеру с системой из трех веществ A , B и C , но их чистые спектры $s_A(\lambda)$, $s_B(\lambda)$, $s_C(\lambda)$ теперь не известны. Матрица спектров смесей X может быть представлена как произведение матрицы концентраций C и матрицы спектров чистых компонентов S :

$$X = CS^t + E \quad (2)$$

Число строк в матрице X соответствует числу образцов (I). Каждая ее строка отвечает спектру одного образца, снятому для J длин волн. Число строк в матрице C так же равно I , а вот число столбцов равно числу компонентов в смеси ($A=3$).

В идеальном варианте расчета спектры S и концентрации C близки к истинным значениям, хотя точное их восстановление невозможно. Причина этого кроется не только в погрешностях эксперимента, но и в том, что спектры могут частично перекрываться. Разделение данных на химически осмысленные компоненты методом PCA называется факторным анализом.

Метод PCA применяется и при исследовательском анализе любых химических данных. Проиллюстрируем простейший двумерный метод PCA.

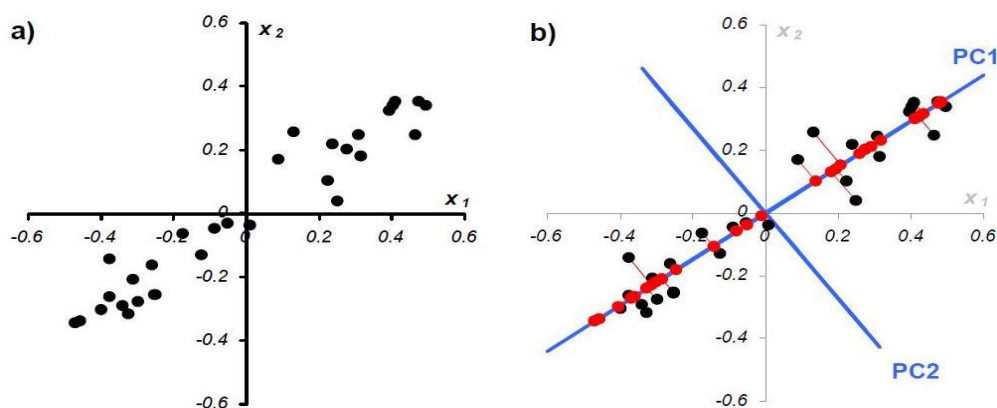


Рисунок 2 – Графическая иллюстрация метода главных компонент

На рисунке 2а представлены данные, состоящие из двух переменных x_1 и x_2 . На рисунке 2b те же данные показаны в новых координатах. Вектор нагрузок p_1 первой главной компоненты PC1 определяет направление новой оси, вдоль которой происходит наибольшее изменение данных. Проекции всех исходных точек на эту ось составляют вектор t_1 . Вторая главная компонента p_2 ортогональна первой и её направление (PC2) соответствует наибольшему изменению в остатках, показанных на рисунке 2b отрезками, перпендикулярными оси p_1 .

Этот пример показывает, что метод главных компонент осуществляется последовательно. Исследуются остатки E_a , среди них выбирается направление наибольшего изменения, данные проецируются на ось, вычисляются новые остатки.

При исследовании данных методом PCA особое внимание уделяется графикам счетов и нагрузок. Они помогают понять, как устроены данные. Близость двух точек означает их схожесть. Точки, расположенные под прямым углом, являются некоррелированными, а расположенные диаметрально противоположно – имеют отрицательную корреляцию. Применяя этот подход в задачах хроматографического анализа, можно, например, установить, что линейные участки на графике соответствуют областям чистых компонентов на хроматограмме, искривленные участки представляют области наложения пиков, а число таких участков соответствует числу различных компонентов в сложном кластере [149]. Метод главных компонент можно трактовать как проецирование данных на подпространство меньшей размерности. Возникающие при этом остатки можно считать шумом, не содержащим значимой химической информации [150].

Активное развитие хемометрики в последние годы и включение ее в методологию современного химического анализа значительно расширило арсенал аналитических методов, сделало их более эффективными и быстрыми. В рассмотренных работах [34-36, 69, 131, 144, 151] применялись приемы хемометрической обработки экспериментальных данных в отношении растительных объектов.

В настоящее время хеометрика получила огромный стимул к развитию в связи с бурным развитием машинного обучения и искусственного интеллекта. Это приводит к появлению совершенно новых продвинутых методов распознавания образов и многопоточного анализа, стимулирует цифровизацию хеометрики, переводя ее в раздел облачных вычислений и больших данных (Big Data). Методы машинного обучения (SVM, PLS-DA) используются для задач классификации и идентификации многокомпонентных объектов. А появление интеллектуальных нейросетевых моделей открыло возможность автоматически выявлять сложнейшие паттерны фальсификации в пищевых продуктах и растительном сырье, которые практически невозможно заметить при использовании традиционной хеометрики [152, 153].

1.5 Заключение к Обзору литературы

Проведенный обзор литературных источников показывает, что проблема определения компонентного состава лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов на их основе, анализ их подлинности и видовой принадлежности являются актуальной задачей, стоящей на стыке аналитической химии и фармакологии.

Несмотря на широкое разнообразие физико-химических методов определения (ГХ-МС, ГХ-ПИД, ВЭЖХ, КЭ и др.) используемых в мире, в Государственной Фармакопее РФ XV издания отсутствуют фармакопейные статьи, где присутствовали бы конкретные методики определения подлинности конкретного растительного сырья этими методами. В рекомендациях Фармакопеи по-прежнему используются методы микроскопического исследования сырья и применения метода ТСХ, которые, хоть и являются «золотым», давно используемым стандартом фармакологии, не позволяют в полной мере оценить состав различных форм лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов и сильно уступают современным методам исследования. Например, помимо значительного влияния субъективного фактора оценки сырья и высокой трудности различить близкородственные виды,

микроскопическое исследование становится бессмысленным при полной разрушении клеточной структуры растения, из которого изготовлен препарат (вытяжка, экстракт, настойка и др.). Также этот метод неэффективен в определении состава ЛРС, так как препарат, несмотря на принадлежность к заявленному виду, может содержать очень низкое количество биоактивных компонентов по причине неблагоприятных условий роста или вследствие неправильной обработки. Что касается метода ТСХ, его существенные ограничения в виде низкой разделяющей способности, сложностей количественной оценки и необходимостью применения стандартов, в совокупности с плохой воспроизводимостью, сильно зависящей от внешних условий, делают очевидным превосходство современных газовых и жидкостных хроматографических методов.

На основе вышеперечисленного можно заключить, что создание и развитие новых современных методов исследования ЛРС позволит не только улучшить контроль за подлинностью, но и значительно облегчить проведение исследований, особенно при применении парофазных способов пробоподготовки. Это позволит уйти от многочасовых процедур приготовления экстрактов с применением различных, зачастую токсичных, растворителей, что благоприятно скажется на скорости проведения анализа и на соответствии принципам «зеленой» химии. А применение хемометрической обработки данных позволит в дальнейшем создать базу данных «отпечатков пальцев» ЛРС для еще большего повышения экспрессности определения. На основании вышеперечисленного были поставлены цель и задачи диссертационной работы.

2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Объекты исследования

Объектами исследования являлись измельченные (размер фрагмента 3-7 мм) высушенные надземные части растений пяти видов семейства Яснотковые различного происхождения (ботанические, промышленные, культивированные): «мелисса лекарственная», «котовник кошачий», «иссоп лекарственный», «змееголовник молдавский», «лаванда узколистная». Ботанические и культивированные образцы были собраны в период с 2021 по 2024 гг., их сушка проводилась воздушно-теневым способом по рекомендациям Государственной Фармакопеи РФ XV издания для эфирномасличных растений [53].

В качестве объектов для анализа использовались следующие образцы ЛРС:

Мелисса лекарственная (*Melissa officinális* L)

1. Ботанический образец (Ботанический сад Самарского университета, г. Самара);
2. Культивированный образец (Самарская обл., с. Алексеевка);
3. Промышленные образцы: «Фитофарм» (Краснодарский край); «Фармацвет» (Московская обл., г. Красногорск); «Иван-чай» (Псковская обл.).

Котовник кошачий (*Népetá catária* L)

1. Ботанический образец (Ботанический сад Самарского университета, г. Самара);
2. Культивированный образец (Самарская обл., с. В. Сускан);
3. Промышленные образцы: «Травы горного Крыма» (Крым); «Зеленый целитель» (г. Сургут, ХМАО).

Иссоп лекарственный (*Hyssópus officinális* L)

1. Ботанический образец (Ботанический сад Самарского университета, г. Самара);
2. Промышленные образцы: «Травы горного Крыма» (Крым); «Родные травы» (Адыгея); «Русские корни» (Алтайский край).

Змееголовник молдавский (*Dracocéphalum moldavica* L)

1. Промышленные образцы: «ВИЛАР» (Самарская обл.); «Хорст» (Барнаул, Алтайский край).

Лаванда узколистная (*Lavándula angustifolia* L)

1. Ботанический образец (Ботанический сад Самарского университета, г. Самара).

2.2 Методика парофазного газохроматографического анализа ЛРС

Пробоподготовка. Газовую экстракцию летучих компонентов ЛРС проводили следующим образом: навеску высушенного растительного сырья 2 г помещали в герметичный стеклянный сосуд объемом 10 мл, который помещали в металлический контейнер для установки в термостат. РПФ получали при температурах 40, 60, 80, 100, 120 и 140 °С в течение 5, 10, 20, 30 и 40 минут. После окончания процесса газовой экстракции нагретым стеклянным шприцем отбирали из сосуда газовую фазу в объеме 1 мл и вводили ее в испаритель хроматографа. По полученным результатам были установлены рациональные условия проведения газовой экстракции для получения информативных хроматографических профилей исследованных ЛРС. Исследование РПФ в рациональных условиях проведения газовой экстракции проводили пятикратно, каждый раз приготавливая новую пробу.

Газохроматографический эксперимент. Анализ летучих соединений РПФ проводили с использованием газовых хроматографов с пламенно-ионизационным (ПИД) и масс-спектрометрическим (МС) детекторами.

ПФА-ГХ-ПИД исследование проводили на газовом хроматографе «Кристалл 5000.2» с пламенно-ионизационным детектором (ПИД), разделение осуществляли на кварцевой капиллярной колонке RTX-5 с малополярной 5 %-дифенил-95 %-диметилполисилоксановой неподвижной фазой (30 м × 0.32 мм, $d_f = 0.25$ мкм). В качестве газа-носителя использовали азот, скорость 1 см³/мин. Давление газа-носителя на входе в колонку — 35 кПа, деление потока — 1:50. Питание ПИД:

водород – объемная скорость 25 см³/мин, воздух – объемная скорость 250 см³/мин. Анализ проводили при линейном программировании температуры: изотерма при температуре 40 °С на протяжении 2 мин, затем нагрев со скоростью 4 °С/мин до температуры 160 °С. Температура детектора составляла 200 °С, температура испарителя – 200 °С.

ПФА-ГХ-МС исследование проводили на приборе «Кристалл 5000.2» с масс-селективным детектором с ионизацией электронным ударом на капиллярной колонке HP-5ms (30 м × 0.25 мм, $d_f = 0.25$ мкм) с 5 %-дифенил-95 %-диметилполисилоксановой неподвижной фазой. Газ-носитель – гелий, объемная скорость потока на выходе из колонки 1 мл/мин. Температура испарителя 200°С, температура источника ионов 220°С, температура переходной камеры 190°С. Диапазон сканирования: 20-500 Да. Температурный режим термостата колонки был идентичен режиму на ПФА-ГХ-ПВД. Результаты хроматографического эксперимента обрабатывали с использованием программного обеспечения «Хроматэк-Аналитик 3.0», «Excel», хемометрическую обработку данных проводили при помощи программы «MetaboAnalyst 6.0» при 3х-кратной повторяемости полученных результатов ($P = 0,95$).

При таких же условиях проводили анализ стандартных веществ сравнения *n*-алканов C₃-C₁₆ для расчета характеристик удерживания (C₃, C₄ – ГСО 10597-2015, ООО «ПГС-Сервис»; C₅, C₈-C₁₄ – 99%, «Acros Organics»; C₆, C₇ – ХЧ, ООО «АО РЕАХИМ»; C₁₅, C₁₆ – 99%, «Chem Service»). Перед проведением анализа для проверки стабильности нулевой линии и исключения присутствия посторонних пиков осуществляли ввод «холостой» пробы – исполнение всех этапов пробоподготовки и соблюдение всех условий эксперимента, но без анализируемого образца ЛРС. В хроматограф при этом вводили воздух из герметичного сосуда после термостатирования.

На основе полученных экспериментальных данных рассчитывали:

1. Индексы удерживания Ван ден Доола и Кратца при линейном программировании температуры (I_i^T):

$$I_i^T = 100 \left(\frac{t_{Ri} - t_{Rz}}{t_{Rz+1} - t_{Rz}} \right) + 100z, \quad (3)$$

где t_{Ri} – время удерживания i -го компонента, а t_{Rz} и t_{Rz+1} времена удерживания соседних гомологов n -алканов с количеством углеродных атомов в молекуле z и $z+1$ соответственно.

2. Относительную площадь пиков ($A_{omn,i}$) летучих компонентов ЛРС:

$$A_{отн,i} = \frac{A_i}{\sum A_i} \cdot 100\%, \quad (4)$$

где A_i – абсолютное значение площади пика i -го компонента, а $\sum A_i$ – сумма площадей пиков всех компонентов на хроматограмме;

3. Отношение абсолютных площадей пиков средне- труднолетучего i -го компонента РПФ к площади пика легколетучего компонента ($A_{omn,st}$), присутствующих в РПФ при любых температурах экстракции:

$$A_{отн,st} = \frac{A_i}{A_{st}}, \quad (5)$$

где A_i – абсолютное значение площади пика исследуемого средне- труднолетучего i -го компонента паровой фазы; A_{st} – абсолютное значение площади пика легколетучего компонента РПФ.

Газохроматографический эксперимент проводили в условиях программирования температуры колонки для обнаружения высококипящих компонентов, что является стандартным подходом в исследовании многокомпонентных растительных объектов. Поэтому для расчета характеристик удерживания использовалась линейная формула расчета индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца (формула 3). Применение индексов удерживания Ковача в этом случае недопустимо, поскольку логарифмическая формула для их расчета рассчитана на экспоненциальный рост времен удерживания сетки n -алканов при изотермическом температурном режиме колонки.

Идентификация. В настоящее время наиболее распространенным методом газовой хроматографии является ее комбинация с масс-спектрометрией [154], который объединяет достоинства газохроматографического разделения сложных многокомпонентных смесей по величинам удерживания на неподвижных фазах с

возможностями масс-спектрометрической идентификации компонентов по закономерностям фрагментации и ионизации соединений различных классов. Все это, в совокупности с хроматографическими и масс-спектральными базами данных, позволяет достаточно точно идентифицировать соединения входящие в состав сложных органических смесей.

Рассмотрим монотерпен β -пинен в РПФ ботанического образца иссопа лекарственного ($t_{Ri} = 12,8$ мин; $I_i^T = 936$), который, стоит отметить, присутствовал практически во всех проанализированных образцах ЛРС. При сопоставлении масс-спектра β -пинена полученного экспериментально с его библиотечным масс-спектром, программное обеспечение хроматографа определило вероятность правильной идентификации компонента в 95%.

Информацию о структуре летучих компонентов подтверждали, сопоставляя рассчитанные нами индексы удерживания с литературными данными по величинам I_i^T эфирных масел и экстрактов исследуемых растений [155] со значениями из атласа масс-спектров эфирных масел [156] и базы данных NIST [157].

Рассмотрим более легколетучий компонент, например, альдегид 2-метилпропаналь ($t_{Ri} = 3,5$ мин; $I_i^T = 558$), обнаруженный в РПФ ботанического образца иссопа лекарственного. Для него вероятность корректной идентификации по масс-спектрам составила 70%. Это вещество практически не встречается в литературных источниках по исследованию эфирных масел иссопа лекарственного ввиду своей летучести, поэтому обратимся к базе данных газохроматографических индексов удерживания NIST, полученных на капиллярных колонках с 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксановой неподвижной фазой со схожим режимом программирования температур, чтобы убедиться в правильности определения. По перечисленным параметрам индексы удерживания Ван ден Доола и Кратца для 2-метилпропаналя в базе данных NIST находились в интервале от 551 до 559 единиц индекса, что позволяет нам заключить, что вещество с индексом удерживания 558 с наибольшей вероятностью является альдегидом 2-метилпропаналем.

2.3 Методика проведения капиллярного электрофоретического анализа лекарственного растительного сырья

Пробоподготовка. Водно-этанольные экстракты для электрофоретических исследований получали следующим образом: навеску сухого растительного сырья массой 1 г помещали в колбу со шлифом и приливали 20 мл 70% этанола. Нагревали смесь на водяной бане с обратным холодильником в течение 1,5 часов. После чего экстракт фильтровали в колбу 50 мл с доведением объема до метки 70% этанолом. Полученный экстракт фильтровали через бумажный фильтр и помещали в плотно закрытые пластиковые флаконы в темное место.

Непосредственно перед проведением эксперимента спиртовой экстракт пропускали через мембранный фильтр в пробирку типа Эппендорф и помещали в автосамплер системы капиллярного электрофореза для проведения анализа.

Электрофоретический эксперимент. Электрофоретическое разделение проводили на системе капиллярного электрофореза «Капель 105М» со спектрофотометрическим детектором, снабженной кварцевым капилляром диаметром 75 мкм и эффективной длиной $L_{эфф} = 50$ см (общая длина $L_{общ} = 60$ см), с гидродинамическим вводом пробы 30 мбар/с. Условия эксперимента: $U = 20$ кВ; $t = 20$ °С.

В качестве рабочего электролита применяли боратный буфер с $pH = 9,2$ и концентрацией $C = 0,05$ моль/л, обоснованный и рекомендованный в работе [158] для разделения и определения 15 флавоноидов методом капиллярного зонного электрофореза. Раствор рабочего электролита готовили из стандарт-титра натрия тетраборнокислого («Экрес», Россия). Содержимое стандарт-титра перенесли в колбу объемом 1 л, растворили, довели до метки дистиллированной водой и перемешали.

В ходе исследования применяли стандартные образцы флавоноидов, полученные по методикам, разработанным в Самарском государственном медицинском университете (СамГМУ) и зарегистрированным в виде фармакологических статей: цинарозид (ФС 42-3150-95), рутин (ФС 42-2508-87), лютеолин (ВФС 42-1709-87), а также предоставленные СамГМУ кверцетин,

(+)-катехин, феруловая и коричная фенольные кислоты. Подлинность и индивидуальность этих образцов подтверждена методами УФ-, ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Значение длины волны, при которой проводили определение флавоноидов, выбрано после серии экспериментов, в которых было установлено, что в интервале концентраций 1-200 мг/л стандартных образцов этих флавоноидов в экстрактах наиболее удовлетворительные характеристики аналитического сигнала (высота пика, уровень шума) и эффективности при совместном определении исследованных флавоноидов наблюдаются при значении 355 нм. Спектр поглощения лютеолина представлен на рисунке 3.

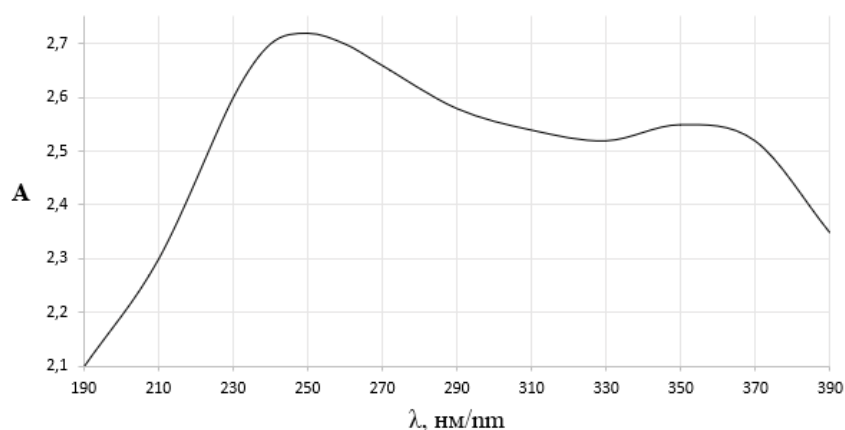


Рисунок 3 – Спектр поглощения стандартного образца лютеолина

Идентификацию и определение исследуемых флавоноидов и фенольных кислот в экстрактах проводили методом стандартной добавки и с построением градуировочных зависимостей.

Статистическую обработку полученных результатов проводили при 4х-кратной повторяемости измерений с применением компьютерной программы Excel. Кроме того, были рассчитаны пределы обнаружения целевых флавоноидов: рутин – 1,95 мг/л, лютеолин – 0,13 мг/л, цинарозид – 0,38 мг/л.

2.4 Оценка погрешности измерения определяемых величин

Погрешность определения индексов удерживания n -алканов рассчитывали из выборки пяти измерений $n = 5$ [159, 160]. По полученным экспериментальным данным рассчитывались:

1. Стандартное отклонение среднего арифметического (среднеквадратичная погрешность) результата измерения индекса удерживания $S_{\bar{x}}$:

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_1^n (I^T - \bar{I}_{exp}^T)^2}{n(n-1)}}, \quad (6)$$

где I^T – единичное значение измеренного индекса n -алкана в выборке, а $\bar{I}_{exp}^T$ – среднее арифметическое значение измеренного значения индекса удерживания n -алкана в выборке рассчитываемое по формуле:

$$I_{exp}^T = 100n \times \left(\frac{t_{R_{алк}} - t_{R_z}}{t_{R_{z+n}} - t_{R_z}} \right) + 100z, \quad (7)$$

где $t_{R_{алк}}$ – время удерживания n -алкана, элюирующегося между двумя другими n -алканами с числом углеродных атомов в молекуле z и $z+n$ соответственно.

2. Правильность (систематическая погрешность) определения индексов удерживания (δ) при линейном программировании температуры колонки:

$$\delta = I_{exp}^T - I_{алк}, \quad (8)$$

где $I_{алк}$ – умноженное на 100 число углеродных атомов в молекуле анализируемого n -алкана.

3. Границы доверительного интервала (случайная погрешность) измерения индексов удерживания (ε):

$$\varepsilon = \pm S_{\bar{x}} t(P, f), \quad (9)$$

где $t(P, f)$ – критерий Стьюдента при $P = 0,95$ и $f = n-1$.

4. Суммарная погрешность измерения индексов удерживания (Δ):

$$\Delta = \sqrt{\delta^2 + \varepsilon^2} \quad (10)$$

В таблице 1 приведены результаты оценки точности определения индексов удерживания при линейном программировании температуры колонки на примере индекса удерживания трех *n*-алканов.

Таблица 1 – Оценка погрешностей определения индексов удерживания *n*-алканов при линейном программировании температуры

Соединение	$\bar{I}_{exp}^T$	S_x	ε	δ	Δ
<i>n</i> -Гексан	598,2	0,168	0,47	1,8	1,9
<i>n</i> -Нонан	898,8	0,044	0,12	1,2	1,2
<i>n</i> -Додекан	1198,9	0,041	0,11	1,1	1,1

По результатам расчетов можно сделать вывод, что случайная составляющая погрешности измерения индексов удерживания изменяется в пределах $\varepsilon = 0,11 - 0,47$, а систематическая составляющая погрешности – в пределах $\delta = 1,1 - 0,89$. Суммарная погрешность определения индексов удерживания при линейном программировании температуры, таким образом, уменьшается с ростом температуры термостата колонки от $\Delta = 1,9$ (*n*-гексан) до $\Delta = 1,1$ (*n*-додекан).

Идентичные результаты были получены для летучих компонентов РПФ проанализированных растений, для которых, в качестве реперных величин I^T использовали средние значения индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца при линейном программировании температур на колонках с 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксановой неподвижной фазой из базы данных NIST [157]. Таким образом, суммарная погрешность определения индексов удерживания компонентов РПФ растений составляет ± 2 единицы индекса на начальном участке газохроматографического профиля и уменьшается до ± 1 единицы индекса с ростом температуры элюирования.

Для относительных площадей пиков, рассчитанных методом внутренней нормализации $A_{отн,i}$, рассчитывалось стандартное отклонение $S_{\bar{x}}$ среднего арифметического значения относительной площади пика компонента $\bar{A}_{отн,i}$ из выборки пяти измерений ($n = 5$):

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_1^n (A_{отн,i} - \overline{A_{отн,i}})^2}{n(n-1)}} \quad (11)$$

Результаты расчетов представлены в таблице 2 на примере четырех летучих компонентов, встречающихся в исследованных объектах ЛРС: 3-метил-1-бутена, гексанола, α -пинена и изопинокамфона, элюирующихся на начальном, среднем и конечном участках линейного программирования температуры колонки.

Таблица 2 – Оценка воспроизводимости измерения относительной площади пиков летучих компонентов при линейном программировании температуры.

<i>Соединение</i>	<i>t_R, мин</i>	<i>I^T_{exp}</i>	<i>$\overline{A}_{отн,i}$, %</i>	<i>S_x</i>
3-Метил-1-бутен	3,04	456	5,82	0,62
Гексанол	10,66	882	1,29	0,08
α -Пинен	12,77	936	4,06	0,26
Изопинокамфон	22,37	1173	5,27	0,59

3 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1 Парофазный газохроматографический анализ летучих компонентов лекарственных растений

Изученные в работе растения семейства Яснотковые являются эфирномасличными, которые богаты летучими соединениями. И поскольку в литературных источниках чаще всего осуществляется анализ жидких проб экстрактов и эфирных масел этих растений, разбавленных летучими органическими растворителями, то наиболее легколетучие компоненты практически не регистрируются и остаются малоизученными. По этой причине важным этапом проведения исследования является изучение и оптимизация процессов получения равновесной паровой фазы (РПФ) из растительного сырья для получения наиболее информативного хроматографического профиля, в полной мере отражающего состав летучих соединений, входящих в его состав.

3.1.1 Мелисса лекарственная

Газовую экстракцию проводили при температурах от 40 до 140 °C с интервалом в 20 °C в течение 5-40 минут. Газохроматографический эксперимент проводился с применением кварцевой капиллярной колонки с малополярной неподвижной фазой 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксана в режиме линейного программирования температуры.

Изучено влияние температуры и времени газовой экстракции летучих компонентов ЛРС мелиссы лекарственной в паровую фазу на примере ботанического образца. По мере увеличения температуры экстракции происходит закономерное увеличение числа пиков компонентов РПФ от 14 до 65 (время экстракции 20 минут), в интервале индексов удерживания от 322 до 1438 ед. индекса. На рисунке 4 видно что наиболее резкий рост числа зарегистрированных компонентов РПФ происходит при температуре экстракции ≥ 100 °C, при этом рост интенсивностей и площадей всех пиков компонентов происходит равномерно, за исключением температуры

экстракции 140 °С, которая характеризуется скачкообразным увеличением интенсивностей пиков низкокипящих соединений начального участка профиля, что в совокупности со снижением интенсивностей и площадей пиков средне- и труднолетучих компонентов, а также с изменением цвета и запаха ЛРС может говорить об иницировании процессов температурной деструкции исходных компонентов растения при этой температуре.

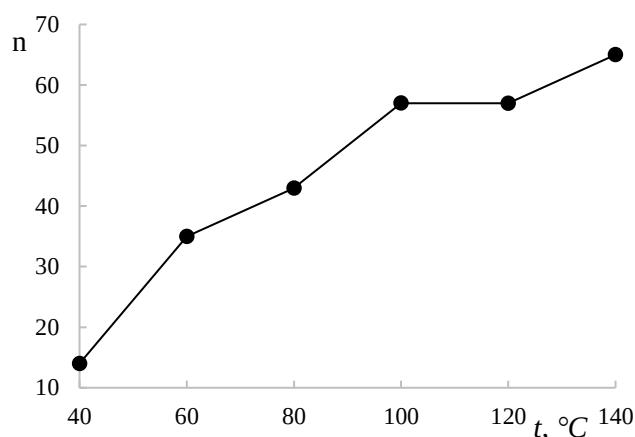


Рисунок 4 – Влияние температуры газовой экстракции ЛРС ботанической мелиссы лекарственной (сбор 2022 г) на число выделившихся в паровую фазу летучих компонентов (время экстракции 20 минут)

Изменение длительности проведения газовой экстракции приводит к тому, что суммарное значение площадей пиков всех компонентов активно возрастает до 20 минуты, после чего, при дальнейшем увеличении времени экстракции, практически не изменяется. Это свидетельствует о том, что паровая фаза достигает равновесия с высушенным образцом растения в течение 20 минут при температуре экстракции 100 °С. Зависимость изменения суммы абсолютных площадей пиков компонентов ЛРС ($\sum A_i$) от времени экстракции изображена на рисунке 5.

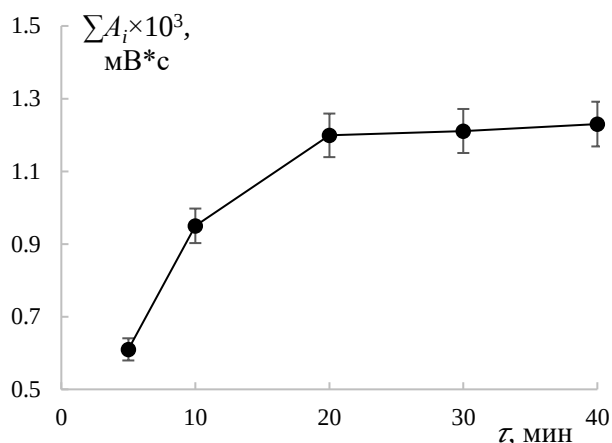


Рисунок 5 – Влияние продолжительности газовой экстракции ЛРС ботанической мелиссы лекарственной (сбор 2022 г) на общее содержание летучих компонентов в паровой фазе (температура экстракции 100 °С)

Для того чтобы установить подходящие условия газовой экстракции из ЛРС, необходимо также определить температуры, при которых соотношения абсолютных содержаний компонентов практически не изменяются. Для этого можно использовать способ, сущность которого заключается в определении зависимостей отношения площади пика менее летучего i -компонента (A_i) к площади пика более летучего компонента (A_{st}), присутствующих в РПФ при любых температурах экстракции. Это обеспечит возможность определения предпочтительной температуры экстракции пробы ЛРС для ПФА по изучению характера этой зависимости. Известно, что степень извлечения компонентов A_i и A_{st} из клеточной матрицы растительного сырья в паровую фазу зависит от величин констант равновесного распределения K_i и K_{st} :

$$K_i = \frac{C_i^P}{C_i^\Pi}; \quad K_{st} = \frac{C_{st}^P}{C_{st}^\Pi}, \quad (12)$$

где C – концентрации компонента в растении (Р) и паровой фазе (Π).

Поэтому, уравнения (12) можно преобразовать:

$$\frac{C_i^\Pi}{C_{st}^\Pi} = \frac{K_{st}}{K_i} \cdot \frac{C_i^P}{C_{st}^P}, \quad (13)$$

где отношение $\frac{C_i^\Pi}{C_{st}^\Pi}$ пропорционально отношению $\frac{A_i}{A_{st}}$.

По мере увеличения температуры экстракции характер изменения K_i , будет приближаться к K_{st} и в определенной точке отношение A_i/A_{st} достигнет минимума, что будет означать достижение постоянства соотношений компонентов паровой фазы ЛРС. При этом при повышении температуры экстракции будет происходить пропорциональное увеличение площадей пиков A_i и A_{st} , тогда как их соотношение будет оставаться постоянным [161].

Для ботанической мелиссы лекарственной сбора 2022 года в качестве легколетучего компонента РПФ было выбрано неидентифицированное вещество с $I_i^T = 544$, присутствующее в паровой фазе уже при 40 °С. На рисунке 6 (кривая 1) приведена зависимость отношения абсолютных площадей (A_i/A_{st}) i -компонента среднелетучего цитронеллала ($I_i^T = 1161$) и легколетучего $I_i^T = 544$ от температуры газовой экстракции, которая имеет вид нисходящей кривой. Это говорит о том, что соотношение выбранных компонентов в паровой фазе достигает относительной стабильности при температуре экстракции ≥ 80 °С. При этом на кривой 2 показано два скачкообразных увеличения сумм площадей пиков компонентов РПФ при температуре 100 °С и 140 °С, что, как говорилось ранее, в первом случае характеризуется более эффективным извлечением компонентов в паровую фазу, без признаков химического превращения пробы, а во втором случае указывает на протекание процесса термического разложения более сложных соединений входящих в состав ЛРС.

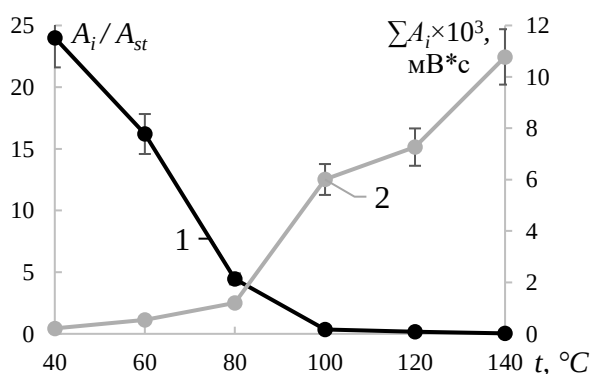


Рисунок 6 – Зависимости отношения площадей пиков (A_i/A_{st}) цитронеллала ($I_i^T = 1161$) и неидентифицированного компонента ($I_i^T = 544$) (1) и суммы абсолютных площадей пиков всех компонентов (ΣA_i) от температуры газовой экстракции ЛРС ботанической мелиссы лекарственной (сбор 2022 г) (2); время экстракции 20 мин

Таким образом, на основании проведенных исследований подходящими условиями проведения газовой экстракции мелиссы лекарственной были приняты следующие значения: время – 20-30 минут, температура – 80-120 °С. При таких условиях возможно получение информативного газохроматографического профиля летучих компонентов РПФ, который наиболее близко отражает действительный состав ЛРС мелиссы лекарственной без химического превращения компонентов. В этом исследовании РПФ мелиссы лекарственной получали при температуре 100 °С и времени экстракции 20 минут.

В литературных данных по исследованию эфирных масел и экстрактов эфирномасличных растений индексы удерживания обнаруженных компонентов охватывают интервал $\approx 900 - 1800$ ед. индекса [90-99]. Компоненты с индексами меньше или больше указанного интервала встречались редко. При исследовании ЛРС методом ПФА интервал индексов обнаруживаемых компонентов смещался к меньшим значениям $\approx 300 - 1200$ ед. индекса, что говорит о присутствии в РПФ куда большего количества соединений с более низкими температурами кипения. Поэтому для разделения компонентов на категории, согласно их характеристикам удерживания и температурам кипения предлагается к *легколетучим* относить соединения с индексами удерживания <900 ед. индекса, как правило, отсутствующие в эфирных маслах и экстрактах. Компоненты в интервале $900 - 1200$ ед. индекса, обнаруживаемые и в газовых экстрактах, и в эфирных маслах, относить к *среднелетучим* соединениям. А вещества в основном обнаруживаемые в экстрактах и эфирных маслах с индексами удерживания >1200 – к *труднолетучим* соединениям [151].

Как известно, вещества близкой полярности или гомологи элюируются в порядке возрастания температур кипения и зависимость «индекс удерживания – температура кипения» имеет линейный характер [52, 100, 135]. Основываясь на результатах предыдущих работ [151], были построены аналогичные зависимости для совокупностей летучих компонентов проанализированных растений семейства Яснотковые с использованием индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца (I_i^T), полученных в условиях линейного программирования температуры малополярной

хроматографической колонки. Таким образом, установлен диапазон температур кипения идентифицированных компонентов РПФ мелиссы лекарственной: от 293 К (3-метилбутен-1) до 554 К (гумулен эпоксид II).

На рисунке 7 представлена зависимость индекса удерживания Ван ден Доола и Кратца при линейном программировании температуры колонки (I_i^T) от температуры кипения компонентов паровой фазы T_b , К ботанической мелиссы лекарственной (сбор 2022 года).

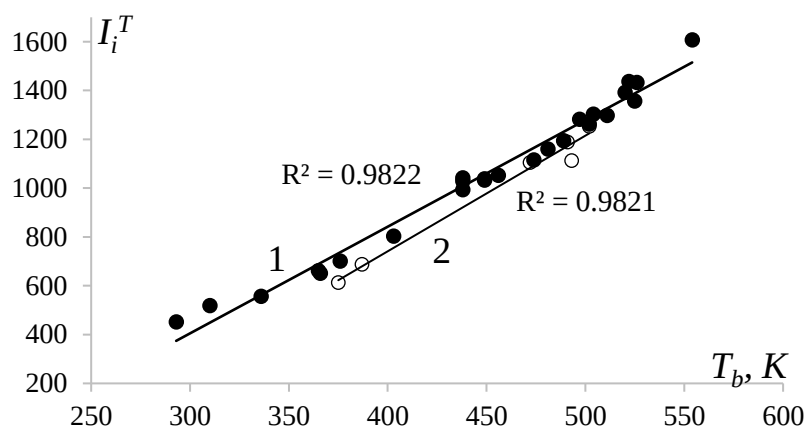


Рисунок 7 – Зависимость индекса удерживания Ван ден Доола и Кратца (I_i^T) от температуры кипения (T_b , К) идентифицированных компонентов РПФ мелиссы лекарственной: 1 – компоненты РПФ за исключением спиртов, 2 – спирты

Как видно из рисунка 7 для идентифицированных соединений наблюдаются удовлетворительные линейные зависимости I_i^T от T_b ($R^2 = 0,98$), причем зависимость для спиртов (2) расположена ниже зависимости остальных соединений (1). Это связано с их меньшим взаимодействием с малополярной 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксановой неподвижной фазой капиллярной колонки. Аналогичное поведение спиртов проявляется и в корреляционных зависимостях «индекс Ковача – температура кипения» для неполярных (сквалан) и малополярных неподвижных фаз [154]. Полученная корреляционная зависимость подтверждает корректность проведенной идентификации компонентов РПФ мелиссы лекарственной проведенной с применением библиотеки индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца при

программировании температуры, библиотеки масс-спектров базы данных NIST и литературным данным.

Как известно, на сложный многокомпонентный состав растений, накапливающих вещества в процессе своего роста и развития, влияет множество факторов: погодные условия, характеристики почв, применяемые удобрения и пестициды. По этой причине, представляет интерес провести исследование изменчивости компонентного состава растения одного вида, произрастающего на одной территории в разные годы. Таким образом, в работе был проведен анализ компонентного состава летучих соединений РПФ мелиссы лекарственной, собранной в Ботаническом саду (г. Самара) в 2021, 2022 и 2023 году.

В РПФ ботанического образца мелиссы лекарственной, собранной летом 2021 года зарегистрировано 40 компонентов с временами удерживания от 2,80 до 32,06 минут и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 316 до 1438 ед. индекса. Доминирующим компонентом образца является 2-метил-3-бутен-2-ол (613), содержание которого в паровой фазе составляет 18,34 %. Это ненасыщенный терпеновый спирт с травянистым запахом, применяется в парфюмерии и в качестве сырья для производства синтетических витаминов и биодобавок. Хроматограмма этого образца полученная методом ПФА-ГХ-МС имела аналогичный вид.

На рисунке 8 представлена хроматограмма РПФ ботанического образца мелиссы лекарственной (сбор 2022 г) на которой зарегистрировано 43 летучих соединения с временами удерживания от 2,81 до 32,07 мин и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 316 до 1438 ед. индекса. Доминирующим компонентом образца является цитронеллаль (1161), содержание которого в паровой фазе составляет 17,11 %. Это терпеновый альдегид, обладающий сильным цитрусовым ароматом, проявляет антисептическое и противовоспалительное действие, применяется в парфюмерии и в качестве сырья для производства ментола.

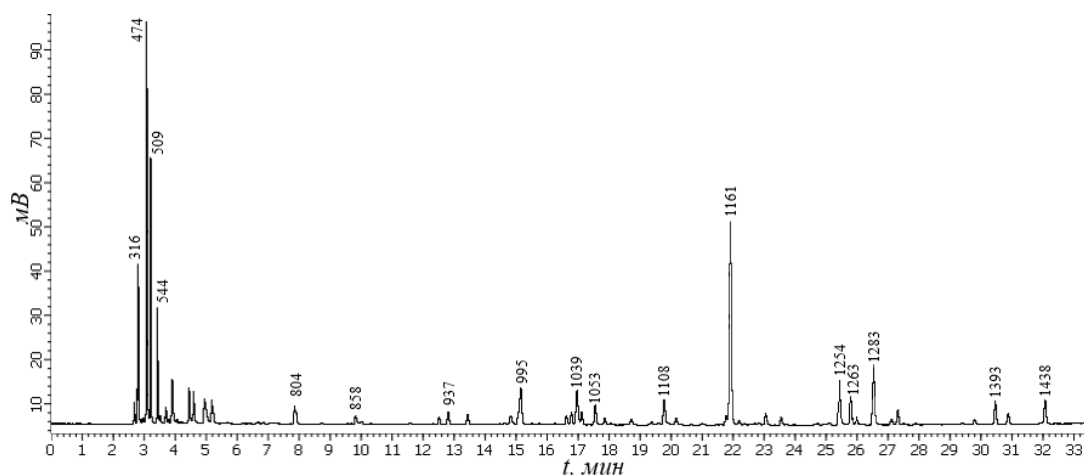


Рисунок 8 – Хроматограмма РПФ ботанического образца мелиссы лекарственной (сбор 2022 г), полученная методом ПФА-ГХ-ПВД (колонка RTX-5 30 м×0,32 мм×0,25 мкм) в условиях программирования температуры (экстракция при 100 °С, 20 мин)

Для РПФ ботанического образца мелиссы лекарственной, собранной в 2023 году, обнаружено 52 соединения с временами удерживания от 3,10 до 42,94 минут и рассчитанными индексами удерживания в интервале 482 – 1654 ед. индекса. Доминирующим компонентом образца с содержанием 27,3% является гераниаль (1263). Это монотерпеновый спирт, обладающий выраженным лимонным запахом, обладает широким спектром применения в фармацевтике, парфюмерии, пищевой промышленности, используется в качестве репеллента.

В таблице 3 приведено сравнение компонентов РПФ ботанических образцов мелиссы лекарственной с 2021 по 2023 год (в таблице не приведены компоненты присутствующие только в одном из образцов в количестве менее 1 %).

Таблица 3 – Относительное содержание зарегистрированных компонентов РПФ ботанических образцов ЛРС мялисы лекарственной, собранных в 2021, 2022 и 2023 году (экстракция при 100 °С, 20 мин)

I_i^T	Соединение	$A_{отн, i} \%$		
		Сбор 2021 г	Сбор 2022 г	Сбор 2023 г
316	—	—	4,73	—
388	—	14,52	—	—
452	3-Метилбутен-1 ^{а,б}	4,60	—	—
474	—	—	12,48	1,17
510	—	11,54	8,04	0,25
519	Диметилсульфид ^{а,б}	5,57	—	—
544	—	—	3,87	0,31
557	2-Метилпропаналь ^{а,б}	14,24	0,31	—
609	—	0,13	2,77	—
613	2-Метил-2-бутен-2-ол ^{а,б}	18,34	—	0,21
652	2-Метилбутаналь ^{а,б}	5,71	1,69	—
662	3-Метилбутаналь^{а,б}	7,20	1,52	0,13
688	1-Пентен-3-ол ^{а,б}	0,41	2,53	—
702	Пентаналь ^{а,б}	0,10	1,81	—
804	Гексаналь ^{а,б}	0,55	1,45	—
994	β-Мирцен^{а,б,в}	4,19	4,13	2,49
1030	(Z)- β -Оцимен ^{а,б,в}	0,99	0,68	—
1034	Эвкалиптол ^{а,б,в}	—	0,99	0,35
1038	β -Терпинен ^{а,б,в}	—	3,12	0,19
1042	(E)- β -Оцимен ^{а,б,в}	—	1,04	0,81
1053	γ -Терпинен ^{а,б,в}	—	1,60	1,16
1106	Линалоол ^{а,б,в}	0,26	2,19	—
1113	2-Фенилэтанол ^{а,б}	—	—	8,91
1116	3-Туйанон ^{а,б,в}	—	0,52	1,59
1161	Цитронеллаль^{а,б,в}	0,27	17,11	1,37
1190	α -Терпинеол ^{а,б,в}	—	1,19	0,87
1195	Эстрагол ^{а,б,в}	—	—	2,42
1223	—	—	—	1,42
1254	Гераниол^{а,б,в}	1,50	3,85	2,48
1263	Гераниаль ^{а,б,в}	—	2,28	27,30
1283	Борнилацетат^{а,б,в}	1,24	5,27	4,57
1298	Карвакрол ^{а,б,в}	—	0,51	7,83
1304	Тимол^{а,б,в}	0,79	1,17	0,30
1358	α -Кубебен ^{а,б,в}	—	—	7,09
1366	—	—	—	1,93
1369	—	—	—	2,85
1393	Геранилацетат^{а,б,в}	0,58	1,80	3,50

Продолжение таблицы 3

1433	α -Кариофиллен ^{а,б,в}	—	—	1,26
1438	α-Гуайен^{б,в}	0,30	2,07	3,16
1608	Гумулен эпексид II ^{б,в}	—	—	2,60

Примечание: идентификацию проводили (а) ГХ-МС, (б) база данных NIST [157], (в) литературные данные [90-99].

Несмотря на то, что все растения собраны на одной территории их составы заметно отличаются. Интересным является тот факт, что состав летучих компонентов мелиссы лекарственной 2021 года сильно смещен в область легколетучих веществ: 2-метилпропаналь, 14,24 %; 2-метил-3-бутен-2-ол, 18,34 % и неидентифицированные вещества с индексами удерживания 388 и 557 с относительными содержаниями 14,52 % и 11,54 %, соответственно. Тогда как мелисса лекарственная сбора 2023 года наоборот, богата средне- и труднолетучими соединениями с $I_i^T > 900$ с преимущественным содержанием гераниала (1263; 27,3 %), 2-фенилэтанола (1113; 8,91 %), карвакрола (1298; 7,83 %) и α -кубебена (1358; 7,09 %). Состав РПФ мелиссы сбора 2022 года распределен более равномерно среди соединений разной летучести с преобладанием цитронеллаля (1161; 17,11 %) и неидентифицированного компонента (474; 12,48 %).

Чтобы объяснить такие различия в компонентных составах обратимся к фактическим сведениям о погодных условиях Самарской области в эти сезоны [163]. По сведениям метеорологов, лето 2021 года стало одним из самых жарких и засушливых в истории метеонаблюдений Самарской области, среднесуточные температуры ежедневно превышали +30,0 °С, а в отдельные дни доходили отметки +41 °С. Отмечен критический дефицит атмосферных осадков, классифицируемый метеорологами как атмосферная и почвенная засуха. Летний сезон 2022 года соответствовал среднемноголетним климатическим значениям. Среднемесячные температуры июня и июля варьировались в пределах +18...+22 °С, случаи превышения тридцатиградусной отметки носили единичный характер. Количество осадков соответствовало норме. Что касается лета 2023 года, этот сезон классифицируется как теплый с выраженным температурным градиентом от

умеренных значений в июне (+17...+18 °C) к стабильно высоким в августе (+29...+33 °C). Осадки выпадали преимущественно в виде кратковременных ливневых дождей.

Как известно, высокие температуры окружающей среды и засуха оказывают деструктивное воздействие на все биологические процессы в растениях, запуская стрессовые механизмы, которые истощают запасы питательных веществ и разрушают клеточные структуры. Способность к фотосинтезу ослабевает, ткани начинают усиленно расходовать питательные вещества, иницируются процессы окисления биоактивных веществ, в то время как их синтез практически останавливается, поскольку растение начинает отдавать все свои ресурсы на противостояние стрессовым условиям [164]. С учетом того, что растения мелиссы лекарственной высаживались и выращивались в открытом грунте, влияние аномальной жары и засухи лета 2021 года обуславливает обедненный состав с практически полным отсутствием средне- и труднолетучих компонентов. При этом умеренные летние погодные условия с обилием осадков 2022 года и стабильно-теплый летний сезон 2023 года с периодическими ливнями, наглядно отражаются в насыщенных разнообразными биоактивными соединениями составах РПФ мелиссы лекарственной этих лет сбора.

Помимо ботанических образцов мелиссы лекарственной было проведено исследование трех промышленных образцов производств «Фитофарм» (Краснодарский край), «Фармацвет» (Московская обл., г. Красногорск), «Иван-чай» (Псковская обл.) и одного культивированного образца мелиссы лекарственной (Самарская обл., с. Алексеевка). Их состав приведен в таблице 4.

Таблица 4 – Относительное содержание зарегистрированных компонентов РПФ образцов ЛРС Melissa officinalis: «Фитофарм», «Фармацвет», «Иван-чай», культивированной (с. Алексеевка); экстракция при 100 °С, 20 мин.

I_i^T	Соединение	$A_{отн, i} \%$			
		Фитофарм	Фармацвет	Иван-чай	с. Алексеевка
318	—	—	2,54	—	—
361	—	19,17	0,67	—	22,11
371	—	—	—	30,51	—
416	Метоксиэтен ^{а,б}	—	37,04	—	—
452	3-Метилбутен-1^{а,б}	3,21	0,64	2,26	0,54
494	—	7,67	—	6,18	16,18
510	—	—	9,21	—	—
519	Диметилсульфид^{а,б}	1,48	0,48	2,77	2,83
530	—	—	1,73	—	—
557	2-Метилпропаналь ^{а,б}	3,46	—	14,30	6,71
565	—	0,29	16,19	—	0,90
591	Пропанол ^{а,б}	0,15	—	0,30	0,44
601	Бутаналь^{а,б}	0,62	0,05	0,63	0,85
605	Бутанон-2^{а,б}	0,41	0,45	0,55	0,83
613	2-Метил-2-бутен-2-ол^{а,б}	1,48	2,72	2,17	4,98
618	2-Метилбутанол-2 ^{а,б}	—	1,18	—	—
652	2-Метилбутаналь ^{а,б}	3,29	—	14,75	2,41
656	н-Бутанол ^{а,б}	—	5,37	—	—
662	3-Метилбутаналь ^{а,б}	3,50	—	12,96	3,44
667	—	—	9,76	—	—
688	1-Пентен-3-ол ^{а,б}	0,76	—	—	0,78
691	2-Пентанон ^{а,б}	0,48	0,41	0,70	0,83
702	Пентаналь^{а,б}	2,14	0,64	1,74	1,54
707	1,1-Диэтоксиэтан ^{а,б}	—	1,92	—	1,67
804	Гексаналь^{а,б}	7,18	0,91	1,40	7,71
829	Бутановая кислота ^{а,б}	—	0,10	—	0,94
860	(Z)-3-Гексенол ^{а,б}	0,46	—	—	2,11
936	α -Пинен ^{а,б,в}	0,81	0,34	—	—
987	6-Метил-5-гептен-2-он ^{а,б,в}	1,13	0,09	—	2,13
994	β-Мирцен^{а,б,в}	7,76	0,76	3,13	2,59
1030	(Z)- β -Оцимен ^{а,б,в}	0,65	0,91	—	—
1036	—	0,98	0,15	—	—
1042	(E)- β -Оцимен ^{а,б,в}	1,96	—	0,61	0,60
1053	γ -Терпинен ^{а,б,в}	1,02	—	—	—
1106	Линалоол ^{а,б,в}	1,48	—	—	0,85
1113	2-Фенилэтанол ^{а,б}	—	—	1,51	—
1116	3-Туйанон ^{а,б,в}	0,55	—	0,62	—

Продолжение таблицы 4

1161	Цитронеллаль ^{а,б,в}	1,01	—	—	2,21
1166	Борнеол ^{а,б,в}	2,58	0,32	—	—
1177	Терпинен-4-ол ^{а,б,в}	1,14	0,12	—	—
1190	α -Терпинеол ^{а,б,в}	1,03	—	—	—
1254	Гераниол ^{а,б,в}	2,50	0,09	—	2,76
1263	Гераниаль ^{а,б,в}	1,52	—	2,14	—
1267	—	1,34	—	—	—
1283	Борнилацетат ^{а,б,в}	2,19	—	—	3,34
1373	Эвгенол ^{а,б,в}	0,92	—	—	—
1393	Геранилацетат ^{а,б,в}	9,75	—	—	2,56
1402	—	—	—	—	0,53
1438	α -Гуайен ^{б,в}	2,80	—	0,77	3,42
1503	(Е)- β -Ионон ^{б,в}	—	—	—	0,61

Примечание: идентификацию проводили: (а) ГХ-МС, (б) база данных NIST [157], (в) литературные данные [90-99].

В РПФ образца мелиссы лекарственной производства «Фитофарм» зарегистрировано 39 компонентов с временами удерживания от 2,86 до 32,07 минут и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 361 до 1438 ед. индекса. Доминирующим компонентом образца является неидентифицированный легкокипящий компонент (361), содержание которого в паровой фазе составляет 19,17 %. Кроме того, в паровой фазе в значительном количестве присутствуют: геранилацетат (1393; 9,75 %), гексаналь (804; 7,18 %) β -мирцен (994; 7,76 %), и неидентифицированное вещество с $I_i^T = 494$ ед. индекса (7,67 %). β -Мирцен – терпен, обладающий травянисто-пряным ароматом с цветочными нотками, ценится за успокаивающие, противовоспалительные и мягкие обезболивающие свойства.

Образец мелиссы лекарственной производства «Фармацвет» содержит 49 соединений с временами удерживания от 2,81 до 25,47 минут и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 315 до 1254 ед. индекса. По относительному содержанию два легколетучих соединения значительно превосходят остальные: метоксиэтен (416; 37,04 %) и неидентифицированное вещество (565; 16,19 %). Метоксиэтен – эфир, продукт окисления более сложных органических соединений, обычно присутствует в мелиссе лекарственной в очень малых количествах, однако его

наличие в РПФ растения в большом соотношении может указывать на обедненный терпеновый состав растительного сырья (неблагоприятные условия роста, высокие температуры обработки и т.п.).

Мелисса лекарственная производства «Иван-чай» содержит в своем составе 20 летучих компонентов с временами удерживания от 2,86 до 32,10 минут в интервале $I_i^T = 371 - 1438$. Состав РПФ этого образца также по большей части выражен легколетучими компонентами: 3-метилбутаналь (662; 12,96 %), 2-метилбутаналь (652; 14,75 %), 2-метилпропаналь (557; 14,30 %) и неидентифицированное вещество (371; 30,51 %). Эти альдегиды, обладающие травянисто-фруктовыми запахами, естественным образом образуются в мелиссе лекарственной в процессе метаболизма, однако их доминирующее содержание в паровой фазе ЛРС может быть признаком воздействия высоких температур при обработке сырья.

Что касается мелиссы лекарственной, культивируемой в с. Алексеевка Самарской области, ее состав характеризуется пиками 33 компонентов РПФ с временами удерживания от 2,85 до 34,39 минут и значениями индексов удерживания от 361 до 1503. Доминантными по относительному содержанию являются легкокипящие неидентифицированные компоненты с индексами удерживания 361 и 494 ед. индекса и относительными содержаниями 22,11 % и 16,18 %, соответственно.

При сравнении составов летучих компонентов этих образцов видно, что большая часть их РПФ представлена легколетучими соединениями. Следует отметить, что при подборе подходящих температур газовой экстракции соотношение компонентов с выраженным превосходством наиболее летучих ($I_i^T < 700$) наблюдалось даже при температуре экстракции равной 40 °С. Это указывает на то, что процесс получения РПФ при проведении пробоподготовки не мог спровоцировать столь сильное искажение состава образцов. В целом, компонентный состав промышленных образцов «Фармацвет» и «Иван-чай» сильно напоминает состав ботанического образца мелиссы лекарственной сбора 2021 года с практически полным отсутствием соединений с индексами более 700, с одной лишь разницей, что для исследования ботанических образцов использовались листья и соцветия, тогда как в упаковках ЛРС этих производителей в измельченном виде находились

преимущественно одревесневшие стебли Melissa, а само сырье имело бледно-желтый, соломенный цвет. Стоит отметить, что эфирные масла у растений семейства Яснотковые, в том числе и у Melissa лекарственной, синтезируются в железистых волосках и чешуйках, которые густо покрывают эпидермис листьев, чашечек и венчиков цветков. Стебли же растений служат транспортной магистралью для доставки питательных веществ от корней к листьям и соцветиям, и они содержат значительно меньше эфирных масел и других полезных компонентов растения [53, 165]. Этот факт, в совокупности с признаками нарушения температурного режима сушки эфирномасличных растений (соломенный цвет сырья) указывает на обедненный терпеновый состав продуктов указанных производителей. В свою очередь, образец производства «Фитофарм» и культивированный (с. Алексеевка) хотя и имеют в составе РПФ легколетучие доминантные соединения, все же содержат средне- и труднолетучие терпеновые соединения, наличие которых характерно для Melissa лекарственной.

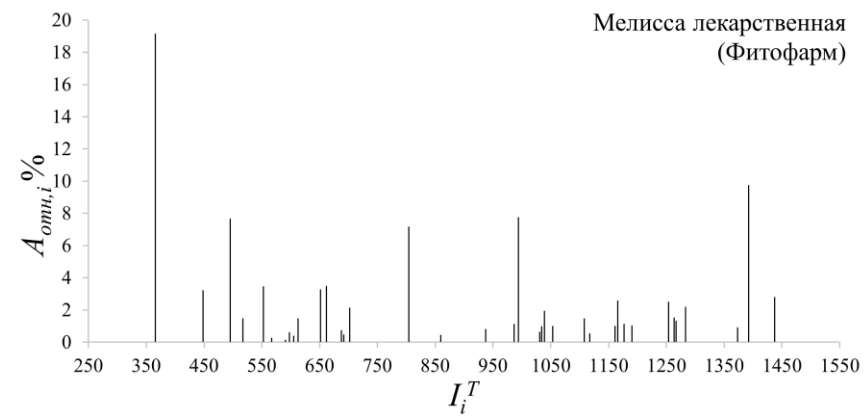
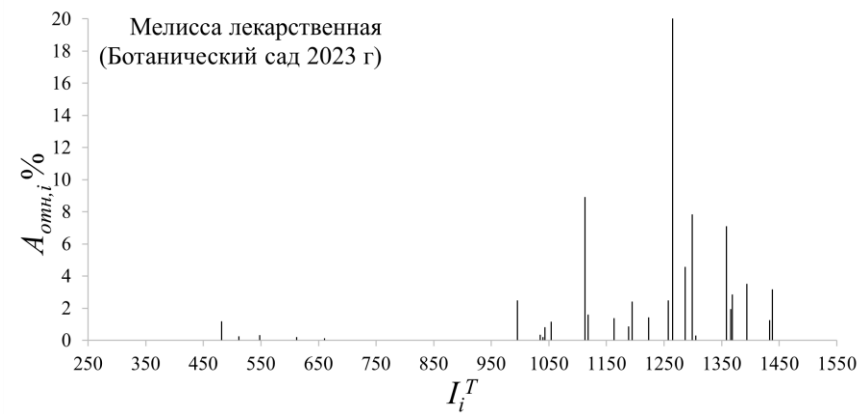
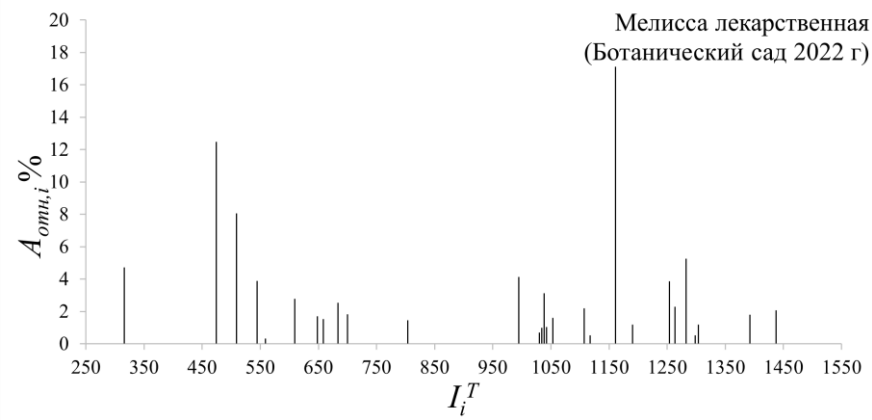
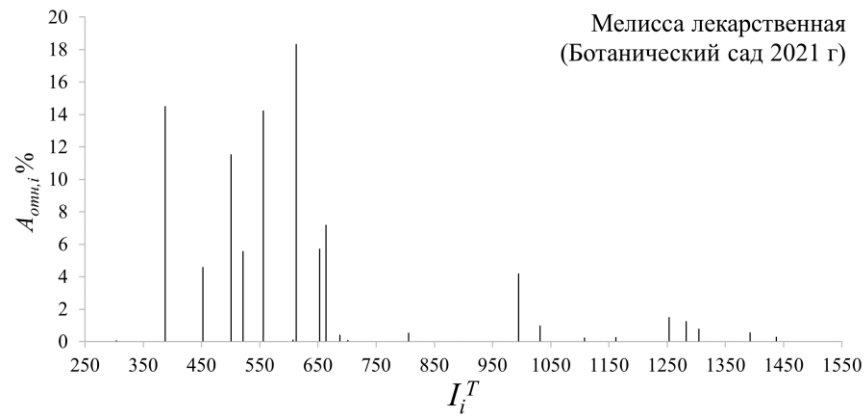
Суммарно, для всех проанализированных образцов ЛРС Melissa лекарственной зарегистрировано 66 соединений, среди которых можно выделить такие классы как: терпены (β -мирцен, β -оцимен, (E)- β -оцимен, γ -терпинен), терпеноиды (эвкалиптол, линалоол, цитронеллаль, α -терпинеол, эстрагол, гераниол, гераниаль, борнилацетат, карвакрол, тимол, 3-туйанон), альдегиды (2-метилпропаналь, 2-метилбутаналь, 3-метилбутаналь, пентаналь, гексаналь, фенилацетальдегид), спирты (2-метил-2-бутен-2-ол, 1-пентен-3-ол, 2-фенилэтанол), сесквитерпены (α -гуайен, гумулен эпоксид II, α -кубебен, α -кариофиллен) и другие. Среди них четыре компонента присутствуют во всех проанализированных образцах Melissa лекарственной различного происхождения: 3-метилбутен-1 (452), диметилсульфид (519), 2-метил-2-бутен-2-ол (613), пентаналь (702) и гексаналь (804).

Для образцов Melissa лекарственной имеющих в составе как низкокипящие, так и высококипящие биоактивные соединения (ботанические образцы 2022 и 2023 года, промышленный «Фитофарм», культивированный образец) результаты исследований согласуются с данными других работ, в которых проводился анализ

эфирных масел и экстрактов Melissa методом ГХ-МС и ГХ-ПВД [90-99]. Гераниаль, цитронеллаль, α -кариофиллен и β -мирцен обнаружены в эфирных маслах и парофазных экстрактах Melissa лекарственной, произрастающей на территории Италии, Турции, и России. Эти же компоненты вместе с гераниолом и линалоолом идентифицированы в составе эфирного масла египетской и иранской Melissa лекарственной, при этом эвкалиптол, β -оцимен и γ -терпинен отмечены в качестве компонентов эфирного масла Melissa лекарственной из Ирана [91-93].

Согласно полученным экспериментальным данным и проанализированным литературным источникам, можно сделать вывод, что ключевыми летучими компонентами Melissa лекарственной являются цитронеллаль, гераниол, гераниаль и его цис-изомер нераль [90]. При этом в проанализированных образцах гераниаль обнаруживался в большом количестве только в ботаническом образце сбора 2023 года (27,3 %). Ботанический сбор 2022 года, «Фитофарм» и «Иван-чай» содержали гераниаль на уровне 2-3 %. Цитронеллаль являлся доминантным компонентом ботанического сбора 2022 года, в то время как ботанические образцы 2021, 2022 годов, «Фитофарм» и культивированный образец содержали его не более 2 %. Гераниол присутствовал во всех образцах кроме «Иван-чай». Нераль, в свою очередь, не был зарегистрирован ни в одном образце ЛРС Melissa лекарственной. Это можно объяснить тем, что нераль менее стабилен, и при хранении, под действием процессов окисления и изомеризации может разрушаться и частично переходить в более стабильный транс-изомер гераниаль. В целом, такие различия в составе обнаруженных компонентов можно объяснить стрессовыми условиями, в которых произрастали растения, и термообработкой при высоких температурах некоторых промышленных образцов, вследствие чего происходило улетучивание и термическое разложение исходных компонентов растения, а также обедненным терпеновым составом продукции некоторых производителей, в которой присутствовало большое количество измельченных стеблей, практически не содержащих эфирных масел.

Для визуализации экспериментальной информации в виде «отпечатка пальца» были построены диаграммы «относительная площадь пика-индекс удерживания» или ПФА-спектры (рисунок 9).



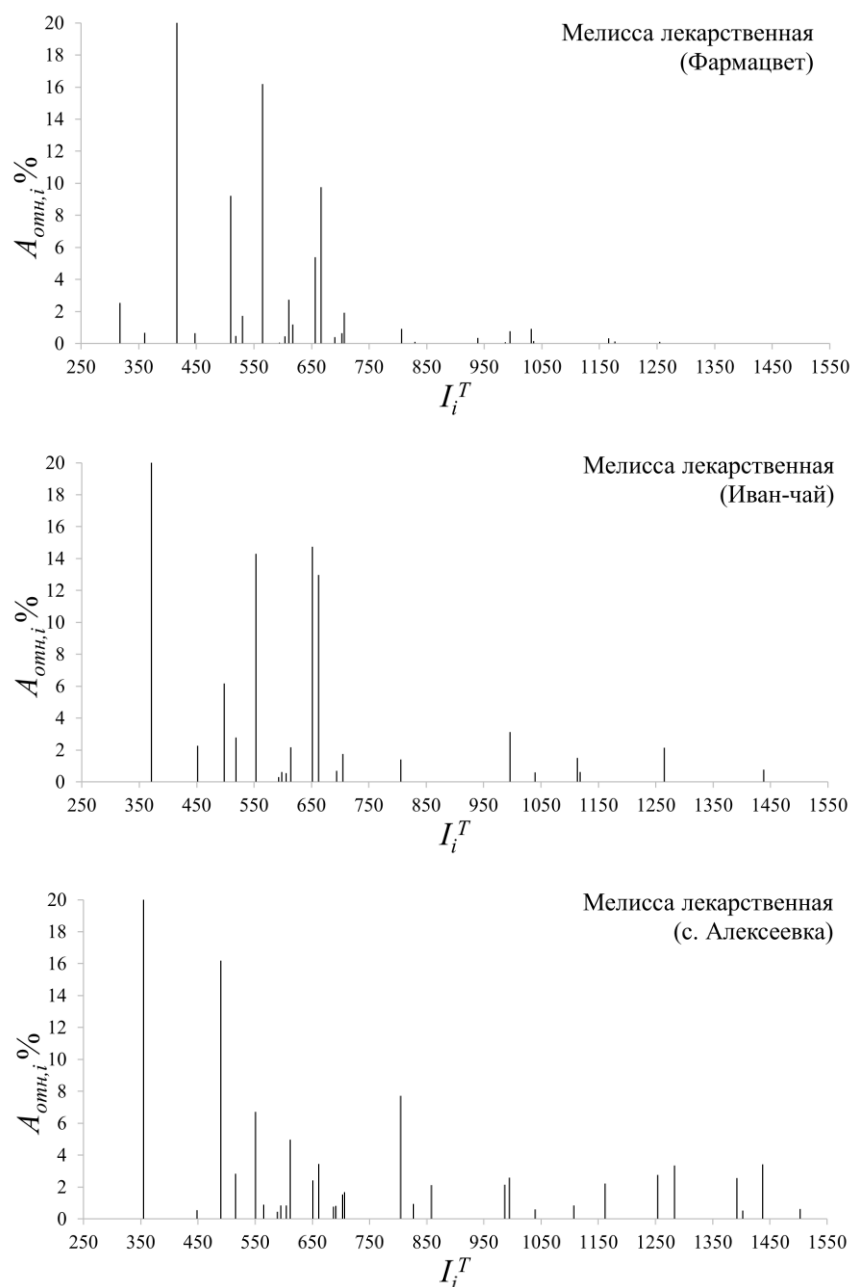


Рисунок 9 – Диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» (ПФА-спектры) трех ботанических образцов ЛРС мелиссы лекарственной 2021-2023 годов сбора, трех промышленных образцов «Фитофарм», «Фармацвет», «Иван-чай» и культивированного образца (с. Алексеевка); экстракция при 100 °С, 20 мин

При сопоставлении полученных ПФА-спектров видно, насколько тот или иной образец мелиссы лекарственной богат полезными биоактивными соединениями. Таким образом, больше всего терпеновых соединений (средне- труднолетучих) содержится в ботанических образцах сбора 2022 и 2023 года, в промышленном образце «Фитофарм» и

образце, культивированном в с. Алексеевка. Их употребление в лечебных целях окажет благоприятный положительный эффект согласно заявленным свойствам растения мелисса лекарственная. Несомненным лидером по содержанию летучих терпеновых соединений является ботанический сбор 2023 года: благоприятные погодные условия для роста и правильный процесс заготовки и хранения обеспечили насыщенность растительного сырья широким разнообразием терпеновых соединений, в том числе характерных для мелиссы лекарственной (цитронеллаль, гераниол, гераниаль) с практически полным отсутствием легколетучих компонентов в составе РПФ. С другой стороны, практически полное отсутствие в РПФ средне- трудно летучих терпеновых соединений характеризует ботанический образец сбора 2021 года и образцы производств «Фармацвет» и «Иван-чай». Их состав почти полностью представлен низкокипящими веществами с $I_i^T < 700$, что указывает на высокие стрессовые условия при росте (аномальная жара и засуха, повлиявшая на состав ботанического образца 2021 года), нарушение рекомендаций Государственной Фармакопеи РФ для сушки эфирномасличных растений (соломенно-желтый цвет ЛРС промышленных образцов, признаки температурной деструкции компонентов с преобладанием в РПФ легколетучих соединений), а также наличие в ЛРС промышленных образцов измельченных одревесневших стеблей растений, которые практически не содержат полезных компонентов. Таким образом ЛРС этих образцов можно охарактеризовать как содержащих малое количество биологически активных веществ, употребление которых будет оказывать значительно меньший полезный эффект. Проведенный анализ подтверждает сильную зависимость состава летучих компонентов растений от множества факторов от первых стадий роста до заготовки и хранения ЛРС.

Что касается видовой идентификации мелиссы лекарственной, можно сделать вывод, что ее проведение возможно для образцов ЛРС, имеющих в своем составе достаточное количество терпеновых соединений (ботанические образцы 2022 и 2023 года, промышленный образец «Фитофарм», культивированный образец с. Алексеевка). В их составах присутствуют характерные для мелиссы ключевые компоненты, отмеченные в литературе (гераниаль, цитронеллаль, α -кариофиллен, β -мирцен, β -оцимен), наличие которых в РПФ говорит о принадлежности сырья к виду мелисса лекарственная.

Таким образом, предложенным способом были установлены предпочтительные условия получения РПФ мелиссы лекарственной (время – 20-30 минут, температура – 80-120 °С) и показана эффективность предложенного метода ПФА-ГХ в исследовании семи образцов ЛРС мелиссы лекарственной различного происхождения. По результатам исследования получены хроматограммы РПФ образцов, проведена идентификация компонентов по библиотеке индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца при программировании температуры, библиотеки масс-спектров базы данных NIST и литературным данным. В ряде образцов (ботанических, культивированном, «Фитофарм») обнаружены компоненты, наличие которых позволяет сделать вывод о принадлежности сырья к виду мелисса лекарственная: гераниаль, цитронеллаль, α -кариофиллен, β -мирцен. Установлено, что предложенный подход позволяет проводить определение ключевых летучих компонентов растения даже в условиях их высокой изменчивости образцов мелиссы лекарственной, зависящей от условий произрастания и процесса заготовки сырья. Кроме того, построены диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» летучих соединений ЛРС мелиссы лекарственной (ПФА-спектры), которые представляют собой уникальные совокупные образы растения.

3.1.2 Котовник кошачий

Газовую экстракцию из ЛРС котовника кошачьего проводили при температурах от 40 до 140 °С с интервалом в 20 °С в течение 5-40 минут. Газохроматографический эксперимент проводился с применением капиллярной колонки с малополярной неподвижной фазой 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксана в режиме линейного программирования температуры.

Изучено влияние температуры и времени газовой экстракции летучих компонентов ЛРС котовника кошачьего в паровую фазу на примере ботанического образца. По мере увеличения температуры экстракции происходит последовательно увеличение числа пиков компонентов РПФ от 7 до 70 при изменении диапазона индексов удерживания I_i^T от 431-1305 до 362-1444 ед. индекса (время экстракции 20 минут). На рисунке 10 видно, что при повышении температуры экстракции до 100-

120 °С происходит заметный рост числа пиков компонентов, равномерно представленных на всех участках газохроматографического профиля, без всплеска содержания легколетучих соединений. Дальнейшее увеличение температуры до 140 °С начинает оказывать негативное влияние на действительных состав ЛРС, приводя к росту интенсивностей легколетучих компонентов, которое уже наблюдалось для образцов мелиссы лекарственной, совместно с изменением цвета и запаха исследуемого ЛРС, что указывает на химические превращения компонентов.

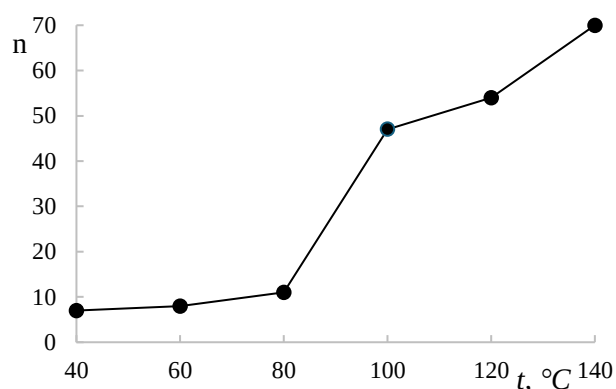


Рисунок 10 – Влияние температуры газовой экстракции ЛРС котовника кошачьего на число выделившихся в паровую фазу летучих компонентов (время экстракции 20 минут)

Изменение длительности проведения газовой экстракции ожидаемо приводит к тому, что суммарное значение площадей пиков всех компонентов активно возрастает до 20 минуты. При дальнейшем увеличении времени экстракции, их число практически не изменяется, что указывает на достижение равновесия паровой фазы в течение 20 минут при температуре 100 °С, рисунок 11.

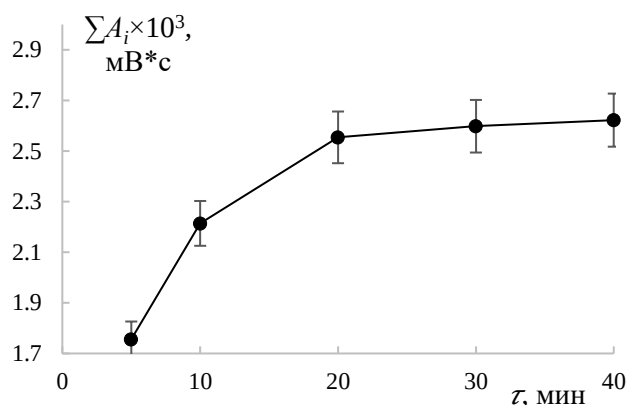


Рисунок 11 – Влияние продолжительности газовой экстракции ЛРС котовника кошачьего на общее содержание летучих компонентов в паровой фазе (температура экстракции 100 °С)

Для определения температур экстракции, при которых наблюдается постоянство соотношений абсолютных содержаний компонентов, выберем в качестве легколетучего компонента 2-метилбутен-1 ($I_i^T = 499$), присутствующий в паровой фазе уже при 40 °С. На рисунке 12 (кривая 1) приведена зависимость отношений абсолютных площадей пиков (A_i / A_{st}) труднолетучего i -компонента цитронеллола ($I_i^T = 1241$) и легколетучего 2-метилбутена-1 от температуры газовой экстракции, которая имеет вид нисходящей кривой, указывающей на то, что соотношение этих компонентов в паровой фазе достигает относительной стабильности при температуре экстракции ≥ 80 °С. При этом на кривой 2 заметно планомерное увеличение суммы площадей всех пиков компонентов, который при температуре 100-120 °С оказывает положительное влияние на извлечение компонентов растения в паровую фазу, поскольку происходит равномерный рост площадей и интенсивностей всех соединений РПФ, тогда как при температуре экстракции 140 °С рост интенсивностей пиков сильно смещается в область легколетучих соединений, что указывает на протекание процесса термического разложения соединений входящих в состав ЛРС.

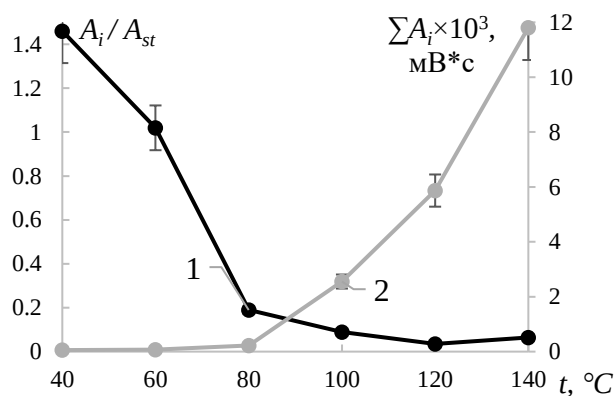


Рисунок 12 – Зависимости отношения площадей пиков (A_i/A_{st}) цитронеллола ($I_i^T = 1241$) и 2-метилбутена-1 ($I_i^T = 499$) (кривая 1) и суммы абсолютных площадей пиков всех компонентов (ΣA_i) от температуры газовой экстракции ЛРС котовника кошачьего (кривая 2); время экстракции 20 мин

Проведенный анализ экспериментальных данных позволяет сделать вывод, что подходящими условиями получения РПФ котовника кошачьего являются следующие значения параметров: время – 20-30 минут, температура – 80-120 °С. При таких условиях возможно получение информативного газохроматографического профиля летучих компонентов котовника кошачьего, который наиболее близко отражает действительный состав ЛРС без химического превращения компонентов. В этом исследовании РПФ котовника кошачьего получали при температуре 100 °С в течение 20 минут.

Аналогично мелиссе лекарственной для котовника кошачьего был установлен диапазон температур кипения идентифицированных компонентов РПФ, выделившихся в газовую фазу: от 279 К (метоксиэтен) до 538 К (α -гумулен). На рисунке 13 представлена зависимость индекса удерживания Ван ден Доола и Кратца при линейном программировании температуры колонки (I_i^T) от температуры кипения компонентов паровой фазы T_b , К.

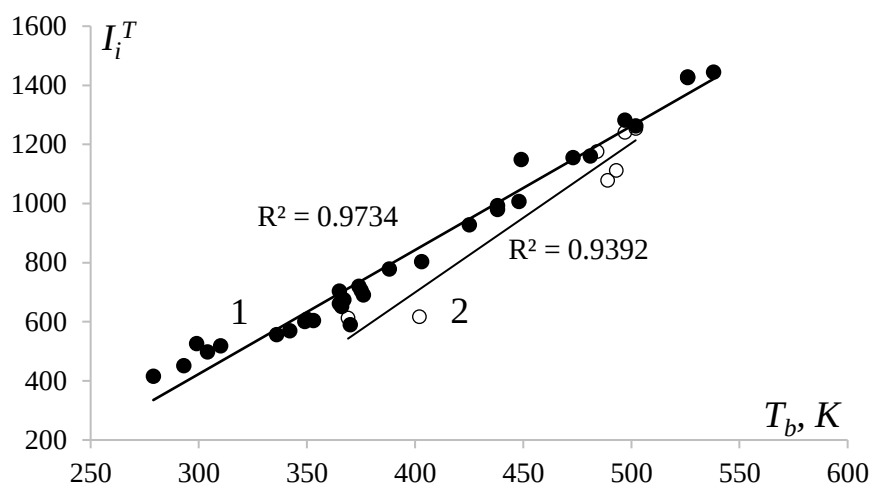


Рисунок 13 – Зависимость индекса удерживания Ван ден Доола и Кратца (I_i^T) от температуры кипения (T_b , K) идентифицированных компонентов РПФ котовника кошачьего: 1 – компоненты РПФ за исключением спиртов, 2 – спирты

Как видно из рисунка 13 для идентифицированных летучих соединений котовника кошачьего также наблюдаются удовлетворительные линейные зависимости I_i^T от T_b ($R^2 = 0,97$ и $0,94$). Зависимость для спиртов (2), при этом, расположена ниже, что связано с их меньшим взаимодействием с малополярной 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксановой неподвижной фазой капиллярной колонки. Полученная корреляционная зависимость еще раз подтверждает корректность идентификации компонентов РПФ котовника кошачьего проведенной с применением библиотеки индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца при программировании температуры, библиотеки масс-спектров базы данных NIST и литературным данным.

В таблице 5 приведены сведения о составе летучих компонентов ботанического (г. Самара) и культивированного (с. В. Сускан, Самарская обл.) образцов ЛРС котовника кошачьего. Помимо исследования ЛРС в год сбора был проведен анализ этого же сырья спустя 3 года хранения для ботанического и спустя 1 год хранения для культивированного образца (оба образца были собраны в 2022 году). Это позволило получить сведения о сохранности биологически активных веществ и показать каким образом длительное хранение влияет на насыщенность растительного сырья терпеновыми соединениями.

Таблица 5 – Относительное содержание зарегистрированных компонентов РПФ ботанического (г. Самара) и культивированного (с. В. Сускан, Самарская обл.) образцов ЛРС котовника кошачьего (экстракция при 100 °С, 20 мин)

I_i^T	Соединение	$A_{отн, i} \%$			
		Ботанический		Культивированный	
		в год сбора	через 3 года	в год сбора	через 1 год
356	—	0,12	—	7,23	8,60
407	—	1,26	—	—	—
416	Метоксиэтен ^{а,б}	6,12	—	—	0,22
452	3-Метилбутен-1 ^{а,б}	0,10	0,74	—	—
473	—	4,06	0,20	0,16	0,15
490	—	—	3,14	—	—
499	2-Метилбутен-1^{а,б}	16,98	9,90	30,05	23,58
519	Диметилсульфид ^{а,б}	—	0,14	10,42	11,19
527	Пентадиен-1,4 ^{а,б}	7,89	0,20	—	—
557	2-Метилпропаналь ^{а,б}	—	14,69	5,81	6,58
565	—	8,71	—	—	—
570	2-Метилпропеналь-2 ^{а,б}	—	5,40	0,93	1,23
591	Пропанол ^{а,б}	—	—	0,22	0,16
601	Бутаналь ^{а,б}	0,36	—	0,42	0,53
605	Бутанон-2 ^{а,б}	0,64	12,41	—	—
609	Этилацетат ^{а,б}	0,17	—	0,57	1,07
613	2-Метил-3-бутен-2-ол^{а,б}	0,26	0,90	10,93	6,63
618	2-Метилбутанол-2^{а,б}	9,51	0,35	0,33	0,72
630	—	0,16	0,68	0,09	—
638	—	—	—	0,37	1,15
642	—	0,34	6,05	0,25	1,03
652	2-Метилбутаналь ^{а,б}	0,24	—	2,99	5,37
662	3-Метилбутаналь^{а,б}	6,93	0,21	3,76	5,36
670	—	6,00	0,14	0,18	0,83
675	3-Метилбутанон-2^{а,б}	0,11	10,54	0,26	0,59
691	2-Пентанон^{а,б}	0,23	10,24	0,21	0,15
704	2-Этилфуран ^{а,б}	0,19	—	0,68	1,75
707	1,1-Диэтоксиэтан ^{а,б}	1,57	0,15	—	—
715	—	—	0,34	0,09	0,19
721	Метилциклогексан ^{а,б}	—	2,93	—	—
779	Метил 2-метилбутират ^{а,б}	0,21	—	0,92	1,11
804	Гексаналь ^{а,б}	0,16	—	0,37	0,24
827	—	2,73	—	3,54	8,10
842	—	—	2,29	—	—
876	Изовалериановая к-та ^{а,б}	—	1,19	—	—
929	α -Трициклен ^{а,б,в}	—	2,33	—	—

Продолжение таблицы 5

981	β -Пинен ^{а,б,в}	—	—	—	0,35
994	β -Мирцен ^{а,б,в}	0,80	—	0,78	2,14
1008	α -Фелландрен ^{а,б,в}	—	1,34	0,10	
1062	—	0,23	1,23	0,17	0,30
1079	α -Кумиловый спирт ^{а,б,в}	—	0,70	—	—
1113	2-Фенилэтанол ^{а,б}	—	—	0,33	0,49
1135	—	—	0,61	—	—
1150	α -Оцимен ^{а,б,в}	—	—	0,22	0,46
1156	β -Пинен оксид ^{а,б,в}	—	6,01	—	—
1161	Цитронеллаль ^{а,б,в}	0,28	—	1,34	1,90
1177	Терпинен-4-ол ^{а,б,в}	—	0,61	—	—
1241	Цитронеллол ^{а,б,в}	1,52	—	7,63	3,16
1254	Гераниол ^{а,б,в}	0,19	—	0,94	0,73
1263	Гераниаль ^{а,б,в}	0,36	1,21	2,68	—
1271	—	—	—	—	1,03
1283	Борнилацетат ^{а,б,в}	0,26	—	1,15	0,68
1411	—	—	1,41	—	—
1427	β -Кариофиллен ^{а,б,в}	3,84	—	—	—
1429	(Е)-Кариофиллен ^{б,в}	0,78	—	—	—
1435	—	3,64	—	0,71	0,52
1440	—	4,44	—	—	—
1445	α -Гумулен ^{б,в}	5,67	—	—	—

Примечание: идентификацию проводили: (а) ГХ-МС, (б) база данных NIST [157], (в) литературные данные [101, 107-110].

Для РПФ ботанического котовника кошачьего исследованного в год сбора зарегистрировано 47 летучих компонентов с временами удерживания от 2,85 до 32,3 мин и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 356 до 1445. Доминирующим компонентом образца является 2-метилбутен-1 с индексом удерживания 499 и с относительным содержанием 16,98 %. Среди других компонентов можно выделить: 2-метилбутанол-2 (618; 9,51 %) и неидентифицированное вещество (565; 8,71 %). 2-Метилбутанол-2 – спирт, обладающий легким травянистым запахом, вместе с алкеном 2-метилбутиеном-1 участвует в процессе растительного метаболизма при синтезе более сложных терпеновых соединений. Отдельно стоит выделить факт, что в этом образце обнаружено большое количество труднолетучих соединений с индексами

удерживания более 1400 ед., которые редко обнаруживаются при анализе паровых экстрактов ЛРС методом ПФА.

Состав летучих компонентов ботанического образца котовника кошачьего спустя 3 года хранения претерпел значительные изменения. В нем обнаружено всего 34 соединения с временами удерживания от 3,02 до 31,12 минут и рассчитанными индексами удерживания I_i^T в диапазоне 452-1411 ед. индекса, что на 13 меньше, чем в первый год хранения. Большую часть РПФ составляют альдегид 2-метилпропаналь (557; 14,69 %) и кетоны бутанон-2 (605; 12,41 %), 3-метилбутанон-2 (675; 10,54 %) и 2-пентанон (691; 10,24 %). В образце значительно уменьшилось содержание трудно- и среднелетучих соединений. Вещества с индексами удерживания более 1400, представленные в основном сесквитерпенами (β -кариофиллен, α -гумулен) вовсе перестали детектироваться, что говорит об их разложении на более простые соединения, содержание которых, в свою очередь, перераспределилось, по сравнению с первым годом хранения. Так, относительные содержания 2-пентанона (691), 3-метилбутанона-2 (675), бутанона-2, 2-метилпропаналя (557) и 2-метилпропеналя-2 увеличилось со следовых количеств до 10% и более от общего числа компонентов РПФ. В свою очередь количества метоксиэтена (416), 2-метилбутена-1 (499), пентадиена-1,4 (527), 2-метилбутанола-2 (618), 3-метилбутанала (662) и некоторых неидентифицированных компонентов (565 и 474 ед. индекса) с величин 5% и более уменьшилось в два раза, а для некоторых опустилось на уровень едва обнаружимых соединений. Указанная тенденция соответствует ожиданиям, так как при хранении ЛРС, под действием кислорода воздуха и солнечного света весь спектр компонентов, содержащихся в растении, подвергается постепенному окислению и разложению, что негативным образом влияет на состав биологически активных соединений. Место без доступа солнечного света и герметичная упаковка не смогли сохранить состав растительного сырья котовника кошачьего от полной компонентной перестройки в течение трехлетнего периода хранения.

Немного другая ситуация наблюдается для культивированного образца котовника кошачьего (с. В. Сускан, Самарская обл.). Так, в РПФ

культивированного образца, проанализированного после сбора и сушки сырья, обнаружено 48 соединений с временами удерживания от 2,84 до 31,96 с индексами удерживания от 356 до 1435 ед. (рисунок 14). Доминантными компонентами паровой фазы являются 2-метилбутен-1 (499; 30,05 %), 2-метил-3-бутен-2-ол (613; 10,93 %) и диметилсульфид (519; 10,42 %). Все эти вещества входят в состав растений и участвуют в метаболизме, однако их высокое содержание может указывать на стрессовые условия роста растения, например, диметилсульфид обычно вырабатывается растениями как репеллент для отпугивания вредителей.

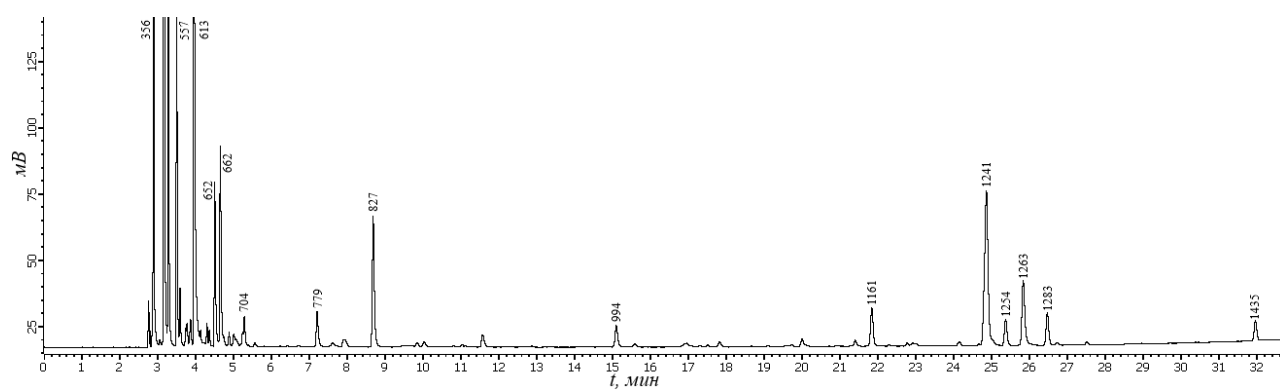


Рисунок 14 – Хроматограмма РПФ культивированного образца котовника кошачьего (с. В. Сускан), полученная методом ПФА-ГХ-ПИД (колонка RTX-5 30 м×0,32 мм×0,25 мкм) в условиях программирования температуры (экстракция при 100 °С, 20 мин)

Повторный анализ этого ЛРС котовника кошачьего проводили спустя год хранения в герметичной упаковке в темном месте. Хроматограмма этого образца содержала пики 39 компонентов (на 9 меньше) с временами удерживания от 2,84 до 31,98 с индексами удерживания от 356 до 1435 ед. 2-Метилбутен-1 (499; 23,58 %), и диметилсульфид (519; 11,19 %) остались доминантными по относительному содержанию, аналогично составу этого образца год назад, тогда как 2-метил-3-бутен-2-ол (613; 6,63 %) уступил по составу двум неидентифицированным соединениям с индексами удерживания 356 и 827 и относительными концентрациями 8,6 % и 8,1 %, соответственно.

В целом, в отличие от ботанического, культивированный образец котовника кошачьего сохранил свой состав без особых изменений. Обнаружено небольшое перераспределение относительных содержаний летучих компонентов ЛРС с незначительным снижением средне- и труднолетучих веществ с приростом легколетучих, что является следствием их разложения и окисления. Больше всего снизилось содержание цитронеллола (1241) с 7,63 % до 3,16 % состава РПФ и гераниала (1263) с 2,68 % до уровня шумов. Содержание же цитронеллаля (1161) и β -мирцена (994) увеличилось менее чем на 0,5-1,5 %, но вероятнее всего это связано не с фактическим увеличением концентрации вещества в растительном сырье, а с потерей/перераспределением других компонентов РПФ.

Также в работе были исследовано два промышленных образца ЛРС котовника кошачьего производства «Травы горного Крыма» и «Зеленый целитель». Для образца «Травы горного Крыма» зарегистрировано 28 летучих компонентов с временами удерживания от 2,85 до 32,03 минут в интервале индексов удерживания 356-1435 единиц (рисунок 15). Доминантными компонентами образца являются β -пинен (981; 14,29 %), 2-метилбутаналь (652; 12,51 %), 2-метилпропаналь (557; 10,51 %) и неидентифицированный компонент с индексом удерживания 356 ед. (14,79 %).

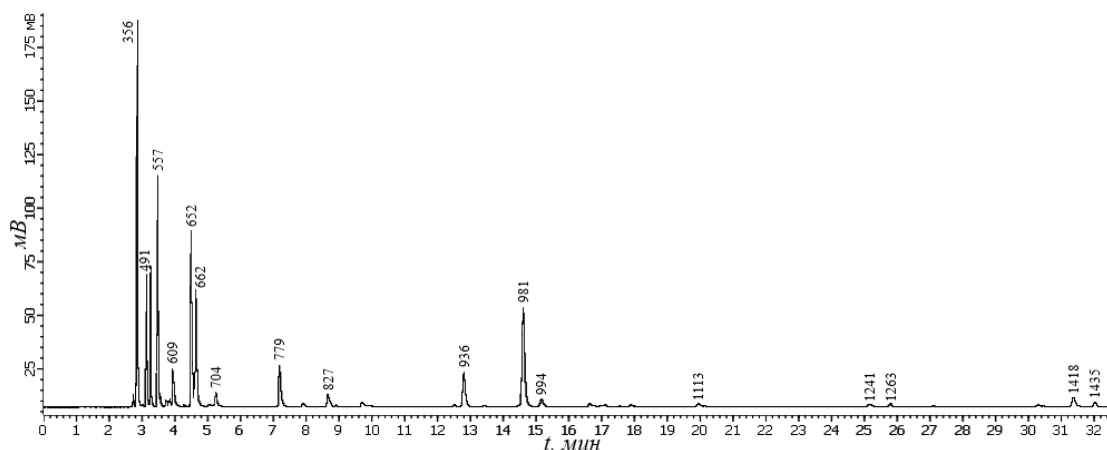


Рисунок 15 – Хроматограмма РПФ промышленного образца котовника кошачьего «Травы горного Крыма», полученная методом ПФА-ГХ-ПИД (колонка RTX-5 30 м×0,32 мм×0,25 мкм) в условиях программирования температуры (экстракция при 100 °С, 20 мин)

В ЛРС котовника кошачьего производства «Зеленый целитель» обнаружено 27 соединений с временами удерживания от 3,00 до 16,27 минут и рассчитанными индексами удерживания от 452 до 1022 единиц. Наибольшее относительное содержание в РПФ имеют 2-метилбутен-1 (499; 31,05 %), бутаналь (601; 14,3 %), 3-метилбутанон-2 (675; 11,3 %) и неидентифицированный компонент (670; 13,86 %).

В таблице 6 приведены сведения о составе РПФ промышленных образцов котовника кошачьего.

Таблица 6 – Относительное содержание зарегистрированных компонентов РПФ промышленных образцов ЛРС котовника кошачьего производств «Травы горного Крыма» и «Зеленый целитель» (экстракция при 100 °С, 20 мин)

I_i^T	Соединение	$A_{отн, i} \%$	
		Травы горного Крыма	Зеленый целитель
356	—	14,79	—
452	3-Метилбутен-1^{а,б}	0,22	0,41
461	—	—	0,13
480	—	—	1,10
490	—	5,85	—
499	2-Метилбутен-1 ^{а,б}	—	31,05
516	—	5,96	0,07
519	Диметилсульфид ^{а,б}	—	2,56
557	2-Метилпропаналь^{а,б}	10,51	5,81
565	—	0,63	3,31
570	2-Метилпропеналь-2 ^{а,б}	—	2,03
591	Пропанол ^{а,б}	0,42	—
601	Бутаналь ^{а,б}	—	14,30
605	Бутанон-2 ^{а,б}	0,47	—
609	Этилацетат ^{а,б}	3,90	—
613	2-Метил-3-бутен-2-ол ^{а,б}	—	0,36
618	2-Метилбутанол-2 ^{а,б}	—	0,40
633	—	—	1,84
652	2-Метилбутаналь^{а,б}	12,51	0,37
662	3-Метилбутаналь ^{а,б}	9,50	—
670	—	—	13,86
675	3-Метилбутанон-2 ^{а,б}	—	11,30
691	2-Пентанон ^{а,б}	0,33	—

Продолжение таблицы 6

704	2-Этилфуран ^{а,б}	1,78	—
715	—	—	1,27
779	Метил-2-метилбутират ^{а,б}	4,41	—
804	Гексаналь ^{а,б}	0,45	—
827	—	1,73	0,49
929	α -Трициклен ^{а,б,в}	0,29	—
936	α-Пинен ^{а,б,в}	4,78	1,96
977	Сабинен ^{а,б,в}	—	3,75
981	β-Пинен ^{а,б,в}	14,29	0,70
994	β -Мирцен ^{а,б,в}	1,13	—
1022	—	—	0,19
1113	2-Фенилэтанол ^{а,б}	0,64	—
1241	Цитронеллол ^{а,б,в}	0,58	—
1263	Гераниаль ^{а,б,в}	0,46	—
1418	—	1,66	—
1435	—	0,58	—

Примечание: идентификацию проводили: (а) ГХ-МС, (б) база данных NIST [157], (в) литературные данные [101, 107-110].

При сравнении промышленных образцов можно сделать вывод, что котовник кошачий производства «Травы горного Крыма» имеет в своем составе большее количество биологически активных средне- и трудно летучих терпеновых соединений и в целом напоминает хроматографический профиль ботанического образца. Также этот образец единственный из проанализированных содержит высокое количество α - и β -пинена (4,78 %, 14,29 %, соответственно), что указывает на уникальные условия произрастания, способствующие накоплению этих компонентов в тканях растения, либо на то, что котовник кошачий «Травы горного Крыма» относится к другому хемотипу.

Состав РПФ котовника кошачьего производства «Зеленый целитель» в основном представлен легколетучими соединениями, расположенными на начальном участке профиля. Высокое содержание 2-метилбутена-1 (499; 31,05 %) даже при низких температурах экстракции, в совокупности с желто-соломенным цветом сырья указывает на нарушение рекомендаций по сушке эфирномасличных растений. Примечательным для этого образца является наличие сабинена

(977; 3,75 %), который не встречался в других образцах. Это монотерпен с пряно-цитрусовым, древесным ароматом, используемый в парфюмерии.

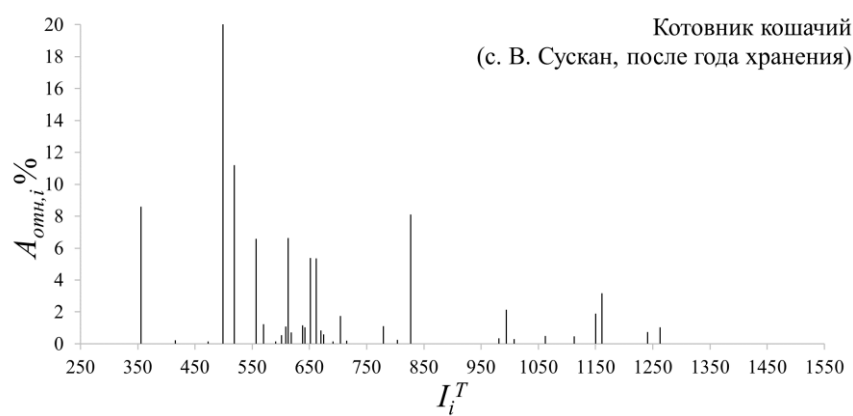
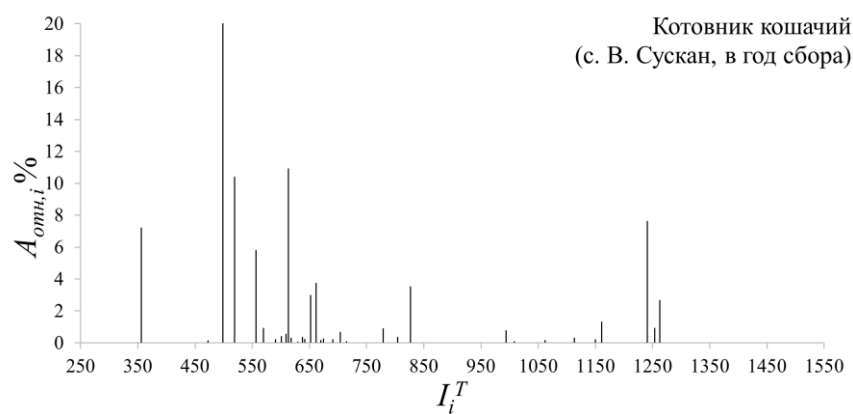
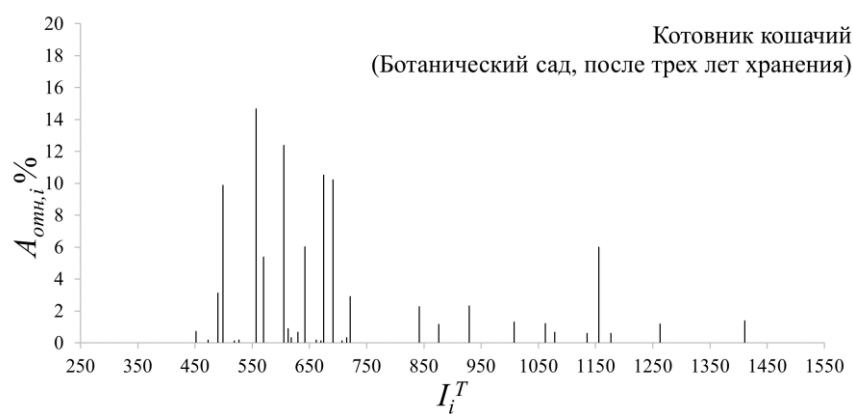
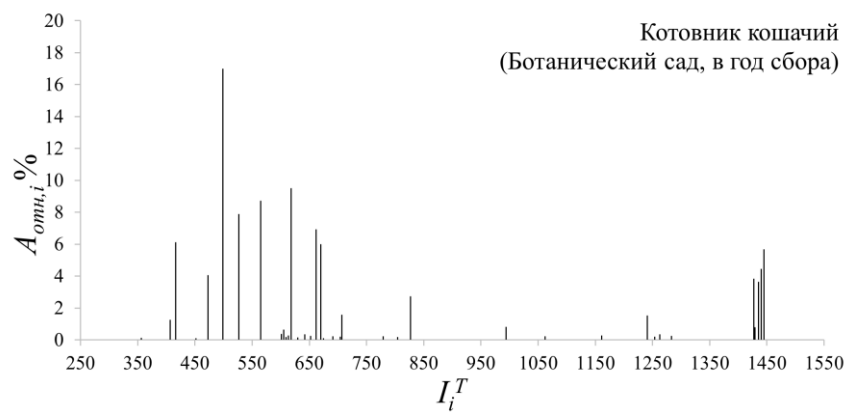
Таким образом, среди летучих компонентов котовника кошачьего, зарегистрированных методом ПФА, были обнаружены природные соединения следующих классов: терпены (α -трициклен, α -пинен, сабинен, β -пинен, β -мирцен, α -фелландрен, α -оцимен, β -кариофиллен, (Е)-кариофиллен, α -гумулен), терпеноиды (гераниаль, гераниол, цитронеллаль, цитронеллол, терпинен-4-ол, борнилацетат, β -пиненоксид, α -кумиловый спирт), альдегиды (2-метилпропаналь, 2-метилбутаналь, 3-метилбутаналь, гексаналь), спирты (пропанол, 2-метилбутанол-2, 2-метил-3-бутен-2-ол, 2-фенилэтанол), кетоны (бутанон-2, 3-метилбутанон-2, 2-пентанон), сложные эфиры (этилацетат, метил-2-метилбутират, 1,1-диэтоксиэтан), фураны (2-этилфуран), кислоты (изовалериановая кислота), сульфиды (диметилсульфид), алкены (3-метилбутен-1, 2-метилбутен-1, пентадиен-1,4) и другие соединения. При этом 3 компонента присутствуют сразу во всех проанализированных образцах котовника кошачьего различного происхождения: 2-метилпропаналь (557), 2-метилбутаналь (652) и неидентифицированный компонент с индексом удерживания 827.

В целом полученные результаты исследования котовника кошачьего согласуются с данными других работ, в которых проводилось изучение эфирных масел и экстрактов данного вида методом ГХ-МС. α -Пинен, β -пинен, β -мирцен, сабинен, гераниол, гераниаль, β -кариофиллен обнаружены в эфирных маслах котовника кошачьего, произрастающего на территории России, Индии, Польши, Ирана и Литвы [101, 107-110]. Цитронеллаль и цитронеллол идентифицированы в водно-этанольных экстрактах и эфирных маслах котовника из Крыма и Польши [101, 110]. α -Трициклен, α -фелландрен, терпинен-4-ол, борнилацетат присутствуют в экстрактах котовника кошачьего из Пакистана [107].

Согласно полученным экспериментальным данным и проанализированным литературным источникам, можно сделать вывод, что ключевыми летучими компонентами котовника кошачьего являются цитронеллол, гераниол и гераниаль. Отдельно стоит выделить часто встречающееся в литературе маркерное

соединение котовника кошачьего – 4α,7α,7α-непеталактон (и его изомеры), который не был зарегистрирован в проанализированных образцах. Этот монотерпеноидный лактон структурно похож на феромоны выделяемые семейством кошачьих и при вдыхании оказывает стимулирующее воздействие на рецепторы в гипоталамусе животного, отвечающие за эмоции и инстинкты. Именно этим и обуславливается особая поведенческая реакция у представителей семейства кошачьих на запах котовника кошачьего, который благодаря такой особенности и получил свое название. Необходимо учитывать, что 4α,7α,7α-непеталактон является труднолетучим соединением с температурой кипения около 232 °С, тогда как метод ПФА-анализа регистрирует преимущественно легколетучие соединения. Поэтому данный хемотаксономический маркер Котовников (*Nepeta*) в основном регистрируется в эфирных маслах и экстрактах растений этого рода. С другой стороны, в литературе описан хемотип котовника кошачьего в составе которого непеталактон отсутствует вовсе, уступая место доминирующих компонентов эфирного масла гераниолу, гераниалу и цитронеллалу [110]. Так что вполне вероятно, в проанализированных образцах котовника кошачьего непеталактон не обнаружен в силу хемотипических особенностей компонентного состава растения. В пользу этого предположения свидетельствует дополнительно проведенный органолептический эксперимент на нескольких представителях семейства кошачьих, которые не демонстрировали специфической реакции на запах ботанического и культивированного образцов котовника кошачьего даже в свежем виде до проведения сушки.

Для визуализации экспериментальной информации о составах РПФ образцов котовника кошачьего в виде «отпечатка пальца» были построены диаграммы «относительная площадь пика-индекс удерживания» или ПФА-спектры (рисунок 16).



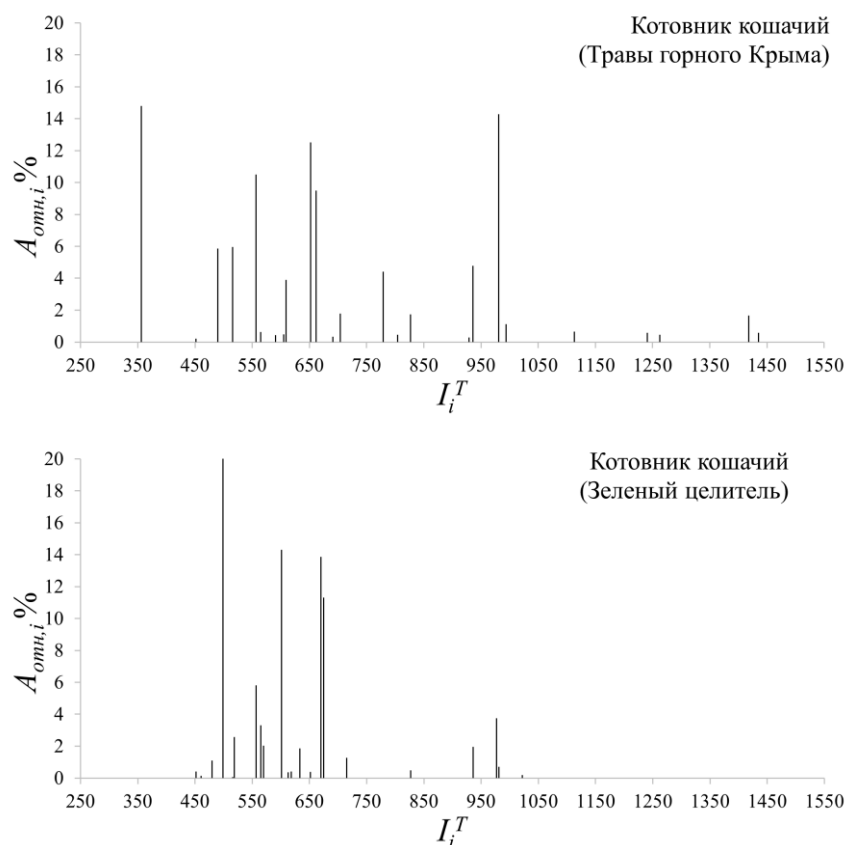


Рисунок 16 – Диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» (ПФА-спектры) ботанического, культивированного и двух промышленных («Травы горного Крыма», «Зеленый целитель») образцов ЛРС котовника кошачьего; экстракция при 100 °С, 20 мин

Сравнение ПФА-спектров ботанического и культивированного образцов котовника кошачьего наглядно показывает изменение состава летучих компонентов растения в процессе длительного хранения. ПФА-спектры культивированного образца котовника кошачьего остались похожи спустя год хранения, заметно лишь некоторое перераспределение содержания средне- и трудно летучих компонентов с легколетучими, вследствие их разложения, окисления и улетучивания. Тогда как для ботанического образца спустя три года хранения ПФА-спектр РПФ был подвержен сильной деградации с видоизменением набора летучих компонентов и полным разложением обособленной группы тяжелых компонентов в конечном участке спектра с их превращением в другие соединения, ранее отсутствовавшие в составе ЛРС.

О промышленных образцах котовника кошачьего можно сделать вывод, что образец «Травы горного Крыма» имеет в своем составе куда больше высококипящих соединений при наличии в составе группы среднелетучих терпеновых соединений в середине спектра, и некоторого количества труднолетучих соединений на его конечном участке. При этом образец «Зеленый целитель» отличается крайне бедным составом летучих компонентов, выраженным низкокипящими соединениями, указывающих на неправильную высокотемпературную обработку сырья при наличии существенной примеси стеблевой фракции растения. Как следствие, биологическая активность этого образца и его полезный эффект будет значительно ниже не только по сравнению с промышленным образцом «Травы горного Крыма», но также и по сравнению с ботаническим образцом спустя 3 года его хранения. Этот эксперимент наглядно подтверждает тот факт, что первоначальная обработка растения после сбора оказывает колоссальное воздействие на его компонентный состав и полезные свойства.

Предложенным способом были установлены предпочтительные условия получения РПФ котовника кошачьего (время – 20-30 минут, температура – 80-120 °C) и показана эффективность предложенного метода ПФА-ГХ в исследовании шести образцов ЛРС котовника кошачьего различного происхождения и срока хранения. По результатам исследования получены хроматограммы РПФ образцов, проведена идентификация компонентов по библиотеке индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца при программировании температуры, библиотеки масс-спектров базы данных NIST и литературным данным. Установлено, что аналитические возможности предложенного метода ПФА-ГХ позволяют выявлять трансформацию профиля летучих компонентов ЛРС при хранении, что открывает перспективы его использования для контроля стабильности ЛРС. Кроме того, метод ПФА-ГХ выявил в ряде образцов компоненты, наличие которых позволяет сделать вывод о принадлежности сырья к виду котовник кошачий (гераниаль, гераниол, цитронеллаль), при этом специфический маркер рода Котовников непеталактон в исследованных образцах не обнаружен. Построены диаграммы «относительная

площадь пика – индекс удерживания» летучих соединений ЛРС котовника кошачьего (ПФА-спектры), которые представляют собой уникальные совокупные образы растения. Кроме того, экспериментально подтверждено, что на состав ЛРС гораздо сильнее влияет первоначальная обработка растения после сбора. Нарушение температурного режима сушки может привести к тому, что продукт теряет терпеновые средне- и трудно летучие биологически активные соединения на начальном этапе и начинает уступать по полезным свойствам другому ЛРС, собранному более трех лет назад, но обработанного с выполнением всех рекомендаций Государственной Фармакопеи РФ.

3.1.3 Иссоп лекарственный

Газовую экстракцию из ЛРС иссопа лекарственного проводили при температурах от 40 до 140 °С с интервалом в 20 °С в течение 5-40 минут. Газохроматографический эксперимент проводился с применением капиллярной колонки с малополярной неподвижной фазой 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксана в режиме линейного программирования температуры.

Изучено влияние температуры и времени газовой экстракции летучих компонентов ЛРС иссопа лекарственного в паровую фазу на примере ботанического образца. По мере увеличения температуры экстракции происходит закономерное увеличение числа пиков компонентов РПФ от 17 до 75 (время экстракции 20 минут). При повышении температуры экстракции до 100 °С происходит заметный рост числа пиков компонентов, большинство из которых представлены на начальном участке газохроматографического профиля, что в совокупности с изменением цвета и запаха исследуемого ЛРС может говорить о протекании химических превращений (температурной деструкции) компонентов растения.

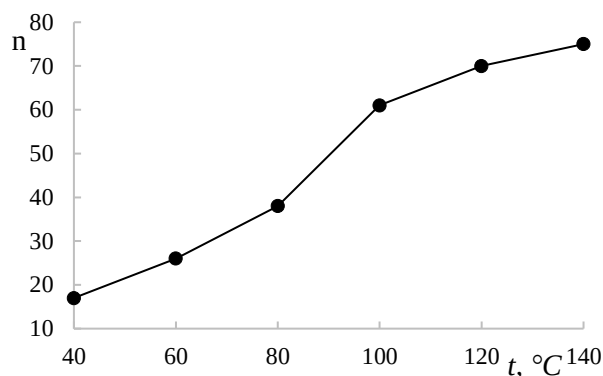


Рисунок 17 – Влияние температуры газовой экстракции ЛРС иссопа лекарственного на число выделившихся в паровую фазу летучих компонентов (время экстракции 20 минут)

При этом диапазон индексов удерживания компонентов, выделившихся в паровую фазу при любых температурах экстракции, остается практически неизменным (307-1508 ед. индекса).

Состав паровой фазы иссопа лекарственного при температуре 80 °С достигает равновесия в течение 20 минут (рисунок 18).

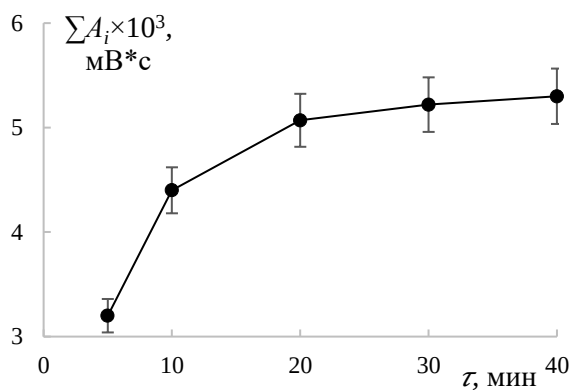


Рисунок 18 – Влияние продолжительности газовой экстракции ЛРС иссопа лекарственного на общее содержание летучих компонентов в паровой фазе (температура экстракции 80 °С)

В качестве легколетучего компонента было выбрано вещество 2-метилпропаналь ($I_i^T = 558$), присутствующее в паровой фазе уже при 40 °С. На рисунке 19 (кривая 1) приведена зависимость отношений абсолютных площадей

пиков (A_i/A_{st}) среднелетучего i -компонента пинокамфона ($I_i^T = 1184$) и легколетучего 2-метилпропаналя от температуры газовой экстракции. Соотношение выбранных компонентов в паровой фазе достигает относительной стабильности при температуре экстракции ≥ 80 °С. На кривой 2 резкое увеличение суммы площадей всех пиков с увеличением количества легколетучих компонентов РПФ происходит при температуре 100 °С и более, что указывает на протекание процесса термического разложения соединений входящих в состав ЛРС. При этом снижения интенсивностей средне- и трудно летучих соединений не происходит, что, вероятно, может указывать на распад нелетучих веществ, содержащихся в ЛРС.

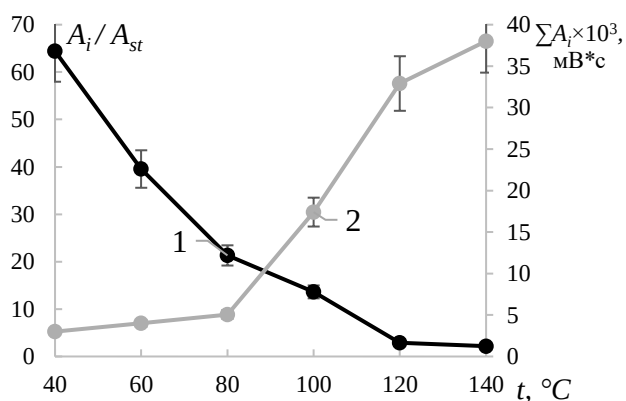


Рисунок 19 – Зависимости отношения площадей пиков (A_i/A_{st}) пинокамфона ($I_i^T = 1184$) и 2-метилпропаналя ($I_i^T = 558$) (кривая 1) и суммы абсолютных площадей пиков всех компонентов (ΣA_i) от температуры газовой экстракции ЛРС иссопа лекарственного (кривая 2); время экстракции 20 мин

Таким образом, на основании проведенных исследований подходящими условиями проведения газовой экстракции иссопа лекарственного были приняты следующие значения: время – 20-30 минут, температура – 80 °С. При таких условиях возможно получение информативного газохроматографического профиля летучих компонентов РПФ, который наиболее близко отражает действительный состав ЛРС, без химического превращения компонентов. В этой работе РПФ иссопа лекарственного получали при температуре 80 °С в течение 20 минут.

Диапазон температур кипения идентифицированных компонентов РПФ иссопа лекарственного составил от 293 К (3-метилбутен-1) до 535 К (γ -кадинен). Зависимость индекса удерживания Ван ден Доола и Кратца при линейном программировании температуры колонки (I_i^T) от температуры кипения компонентов паровой фазы T_b , К, подтверждающая правильность идентификации, приведена на рисунке 20.

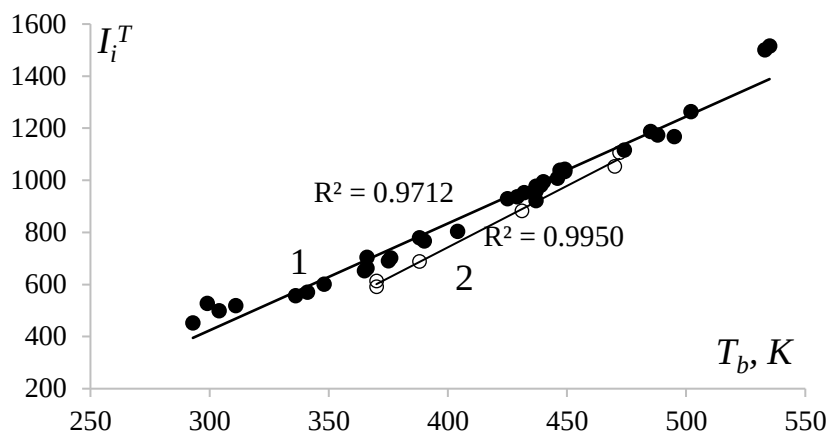


Рисунок 20 – Зависимость индекса удерживания Ван ден Доола и Кратца (I_i^T) от температуры кипения (T_b , К) идентифицированных компонентов РПФ иссопа лекарственного: 1 – компоненты РПФ за исключением спиртов, 2 – спирты

На рисунке 21 приведена хроматограмма РПФ ботанического образца иссопа лекарственного (экстракция при 80 °С, 20 мин)

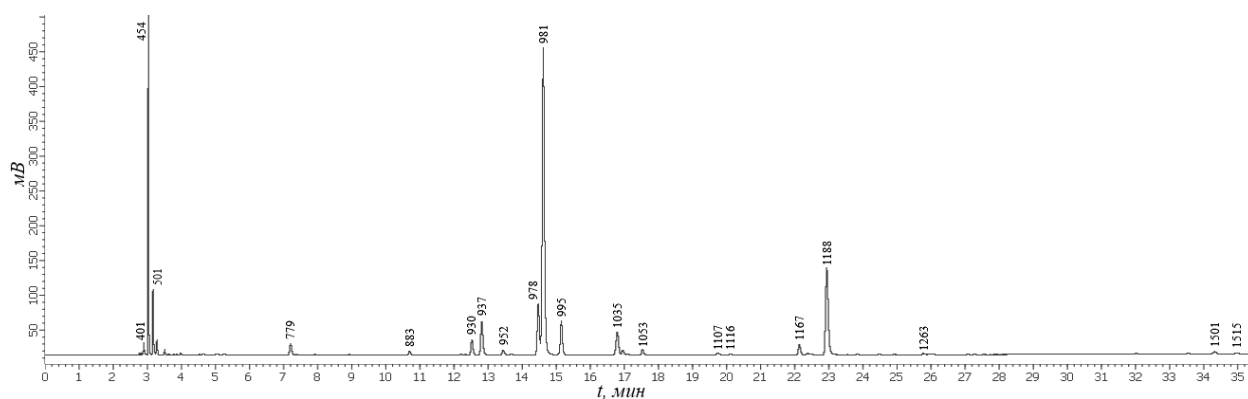


Рисунок 21 – Хроматограмма РПФ ботанического образца иссопа лекарственного, полученная методом ПФА-ГХ-ПВД (колонка RTX-5 30 м×0,32 мм×0,25 мкм) в условиях программирования температуры (экстракция при 80 °С, 20 мин)

На хроматограмме РПФ ботанического образца иссопа лекарственного зарегистрировано 40 летучих компонентов с временами удерживания от 2,90 до 34,97 мин и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 401 до 1515 ед. индекса. Доминирующим компонентом образца является β -пинен (981), содержание которого в паровой фазе составляет 40,39 %. Это монотерпен, обладающий смолисто-хвойным ароматом, проявляет антисептическое действие, применяется в парфюмерии и фармакологии. Хроматограмма этого образца полученная методом ПФА-ГХ-МС имела аналогичный вид.

Также было исследовано три промышленных образца иссопа лекарственного производств: «Травы горного Крыма», «Родные травы», «Русские корни». Хроматограмма РПФ иссопа лекарственного «Травы горного Крыма» представлена на рисунке 22. При сравнении ботанического образца иссопа лекарственного и промышленного «Травы горного Крыма» можно сделать вывод, что их газохроматографические профили очень похожи.

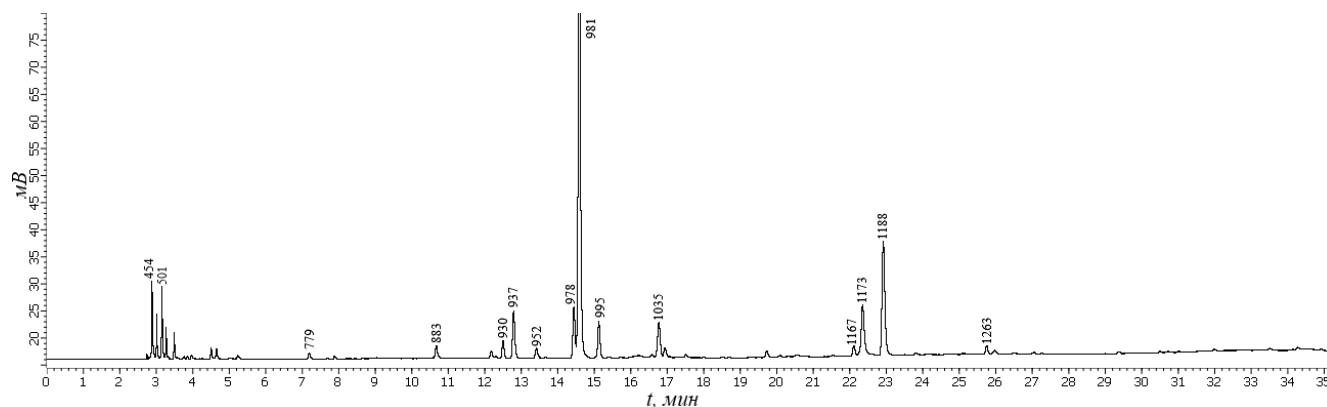


Рисунок 22 – Хроматограмма РПФ промышленного иссопа лекарственного «Травы горного Крыма», полученная методом ПФА-ГХ-ПВД (колонка RTX-5 30 м×0,32 мм×0,25 мкм) в условиях программирования температуры (экстракция при 80 °С, 20 мин)

Хроматограмма РПФ промышленного иссопа лекарственного «Травы горного Крыма» содержит пики 23 компонентов с временами удерживания от 2,88 до 25,76 минут и индексами удерживания в интервале от 388 до 1262 ед. индекса.

Доминирующим компонентом образца также является β -пинен (981), содержание которого в паровой фазе составляет 43,0 %.

Для РПФ промышленного иссопа лекарственного «Родные травы» зафиксировано 15 летучих компонентов с временами удерживания от 2,86 до 22,93 мин и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 370 до 1187. Доминирующим компонентом образца является неидентифицированное вещество с индексом удерживания 373 и с относительным содержанием 33,65 % (его масс-спектр приведен на рисунке 23). Следующими по относительному содержанию является β -пинен (981) – 14,50 %, и 2-метил-1-бутен (499) – 11,40 %.

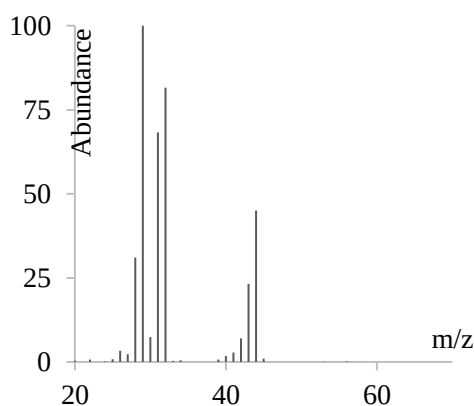


Рисунок 23 – Масс-спектр неидентифицированного компонента РПФ иссопа лекарственного ($I_i^T = 373$), полученный экспериментальным путем

Для капсулированной формы промышленного образца иссопа лекарственного «Русские корни» зарегистрировано 32 компонента с временами удерживания от 2,87 до 22,91 мин и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 376 до 1187. Доминирующим компонентом, как и в предыдущем образце, является неидентифицированное вещество с индексом удерживания 373 и с относительным содержанием 49,13 %. Вторым по относительному содержанию является 2-метил-1-бутен (499) – 20,70 %.

Идентификацию компонентов проводили при помощи библиотеки индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца при программировании температуры и масс-спектров базы данных NIST, а также по литературным данным по анализу эфирных масел и экстрактов иссопа лекарственного [111, 115-123]. Сравнение

зарегистрированных компонентов РПФ всех образцов иссопа лекарственного приведено в таблице 7.

Таблица 7 – Относительное содержание зарегистрированных компонентов РПФ образцов ЛРС иссопа лекарственного (экстракция при 80 °С, 20 мин)

I_i^T	Соединение	$A_{отн, i} \%$			
		Ботсад	ТГК	Родные травы	Русские корни
373	—	—	—	33,65	49,13
388	—	—	3,59	—	—
401	—	0,56	—	—	—
452	3-Метилбутен-1^{а,б}	14,53	1,47	1,53	1,78
499	2-Метилбутен-1^{а,б}	2,94	3,04	11,40	20,70
519	Диметилсульфид ^{а,б}	0,44	1,11	—	0,65
520	—	0,63	—	—	—
527	Пентадиен-1,4 ^{а,б}	—	—	—	0,34
557	2-Метилпропаналь^{а,б}	0,27	1,01	8,79	4,29
570	2-Метилпропеналь-2 ^{а,б}	0,06	—	—	0,40
583	—	—	—	—	0,14
591	Пропанол ^{а,б}	—	—	—	1,49
601	Бутаналь ^{а,б}	0,06	—	—	—
605	—	—	—	1,13	0,98
613	2-Метил-3-бутен-2-ол ^{а,б}	0,16	—	—	0,35
652	2-Метилбутаналь^{а,б}	0,05	0,55	3,15	1,43
662	3-Метилбутаналь^{а,б}	0,07	0,53	4,21	2,03
688	1-Пентен-3-ол ^{а,б}	0,10	—	—	0,63
691	2-Пентанон ^{а,б}	0,10	—	—	—
702	Пентаналь ^{а,б}	0,11	—	1,07	0,51
704	2-Этилфуран ^{а,б}	—	—	—	0,40
767	Метилизовалерат ^{а,б}	—	—	—	0,33
779	Метил-2-метилбутират ^{а,б}	1,28	0,48	—	—
798	—	—	—	—	1,31
804	Гексаналь ^{а,б}	—	—	2,96	0,79
835	—	0,07	—	—	0,32
882	Гексанола^{а,б}	0,42	1,09	3,92	0,55
921	Хашишен ^{а,б,в}	0,11	0,68	—	0,31
929	α -Трициклен ^{а,б,в}	1,77	1,59	—	—
936	α-Пинен^{а,б,в}	4,10	4,49	1,95	0,55
952	Камфен ^{а,б,в}	0,64	0,97	—	0,26
958	Дегидросабинен ^{а,б,в}	0,12	—	—	—
977	Сабинен ^{а,б,в}	6,28	4,71	—	0,28
981	β-Пинен^{а,б,в}	40,39	43,00	14,50	4,42
994	β -Мирцен ^{а,б,в}	4,05	3,50	—	—
1008	α -Фелландрен ^{а,б,в}	—	—	—	0,27

Продолжение таблицы 7

1034	Эвкалиптол ^{а,б,в}	3,40	4,06	—	0,28
1038	β-Терпинен ^{а,б,в}	0,66	1,12	—	0,24
1042	(Z)-β-Оцимен ^{а,б,в}	0,13	—	—	—
1053	4-Туйанол ^{а,б,в}	0,65	—	—	—
1106	Линалоол ^{а,б,в}	0,27	0,64	—	—
1116	3-Туйанон ^{а,б,в}	0,12	—	—	—
1167	Пинокарвон ^{а,б,в}	1,31	0,98	—	—
1173	Изопинокамфон^{а,б,в}	0,28	6,54	3,02	1,26
1187	Пинокамфон^{а,б,в}	13,04	14,02	8,22	3,34
1263	Гераниаль ^{а,б,в}	0,14	0,81	—	—
1501	Бициклогермакрен ^{б,в}	0,36	—	—	—
1515	γ-Кадинен ^{б,в}	0,15	—	—	—

Примечание: идентификацию проводили: (а) ГХ-МС, (б) база данных NIST [157], (в) литературные данные [111, 115-122].

В состав летучих компонентов иссопа лекарственного входят природные соединения таких классов как: монотерпены (α -трициклен, α -пинен, камфен, сабинен, β -пинен, β -мирцен, α -фелландрен, β -терпинен, (Z)- β -оцимен, дегидросабинен), сесквитерпены (бициклогермакрен, γ -кадинен, хашишен), алкены (3-метил-1-бутен, 2-метил-1-бутен), терпеноиды (линалоол, гераниол, 4-туйанол, α -туйон, пинокарвон, изопинокамфон, пинокамфон), альдегиды (2-метилпропаналь, бутаналь, 2-метилбутаналь, 3-метилбутаналь, пентаналь, гексаналь) и другие.

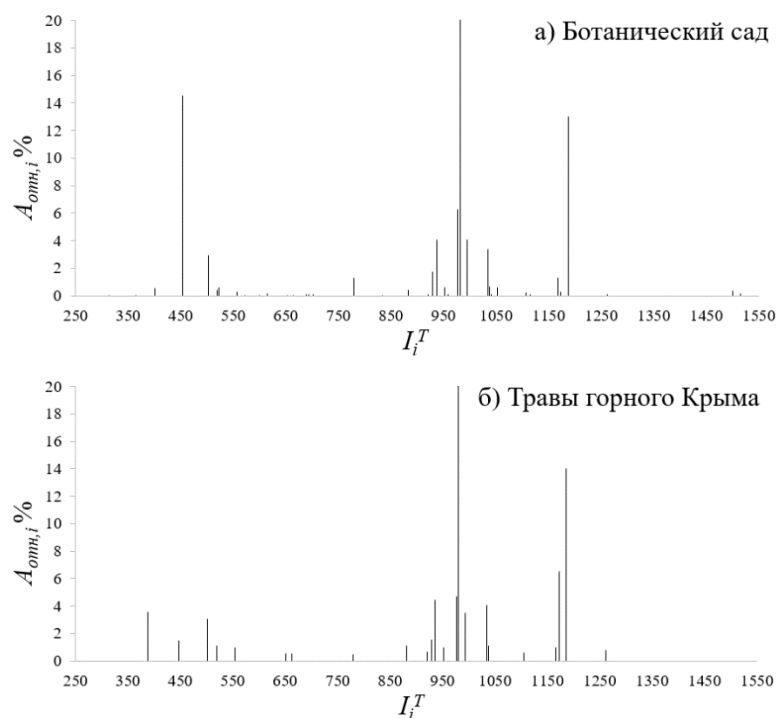
Всего в четырех исследованных образцах ЛРС иссопа лекарственного зарегистрировано 49 соединений, 10 из которых присутствуют во всех образцах: 3-метил-1-бутен (454), 2-метил-1-бутен (499), 2-метилпропаналь (558), 2-метилбутаналь (652), 3-метилбутаналь (663), гексанол (882), α -пинен (936), β -пинен (981), изопинокамфон (1173), пинокамфон (1187).

Результаты исследований образцов ЛРС иссопа лекарственного согласуются с данными других работ, в которых проводилось исследование эфирных масел иссопа лекарственного методом ГХ-МС. α -Пинен, камфен, сабинен, β -пинен, β -мирцен, эвкалиптол, (Z)- β -оцимен, линалоол, α -туйон, пинокарвон, изопинокамфон, пинокамфон, гераниол, бициклогермакрен обнаружены в эфирных маслах иссопа лекарственного, произрастающего на территории России, европейских государств и Индии [111, 115-122]. α -Трициклен, α -фелландрен, β -терпинен, γ -кадинен

присутствуют в эфирном масле иссопа лекарственного, собранного в западных районах Гималаев [123].

Согласно полученным экспериментальным данным и проанализированным литературным источникам, можно сделать вывод, что ключевыми летучими компонентами иссопа лекарственного являются терпены: β -пинен, пинокамфон, изопинокамфон. Эти вещества, как правило, вносят основной вклад в состав РПФ и эфирных масел иссопа лекарственного и, как отмечается в литературе, в значительной степени определяют его медицинские свойства [115]. Таким образом, определение этих компонентов в составе РПФ позволяет отнести проанализированное сырье к виду иссопа лекарственного.

Для визуализации экспериментальной информации в виде «отпечатка пальца» были построены диаграммы «относительная площадь пика-индекс удерживания» или ПФА-спектры (рисунок 24).



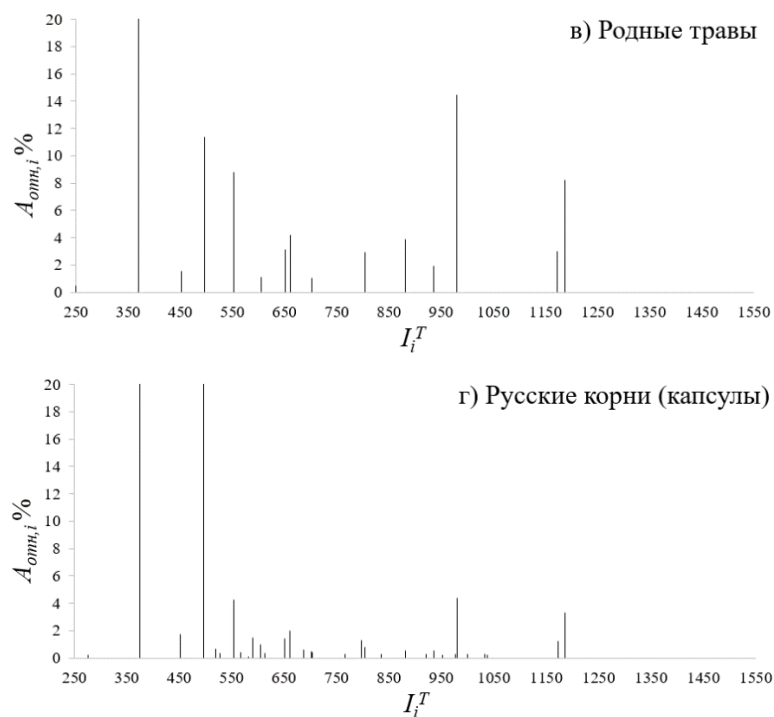


Рисунок 24 – Диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» (ПФА-спектры) образцов ЛРС: а – иссоп лекарственный (Ботанический сад), б – иссоп лекарственный (Травы горного Крыма), в – иссоп лекарственный (Родные травы), г – иссоп лекарственный, капсулированный (Русские корни); экстракция при 80 °С, 20 мин

При сравнении сразу можно заметить некоторую парную схожесть ПФА-спектров: ботанического образца с образцом «Травы горного Крыма», для которых наблюдается интенсивная область среднелетучих соединений в центре спектра; и образца «Родные травы» с капсулированной формой «Русские корни», у которых акцент составляющих РПФ веществ смещен в область легколетучих компонентов. Вероятно, это обусловлено тем, что сушку образцов «Родные Травы» и «Русские корни» производили с нарушениями рекомендаций Государственной Фармакопеи РФ XV издания для эфирномасличных растений, чем и обусловлен их обедненный состав [53]. Другой причиной различий во внешнем виде ПФА-спектров может быть то, что выбранные для анализа образцы относятся к двум различным хемотипам иссопа лекарственного [166].

Примечателен тот факт, что при внешних различиях в спектрах ботанического и капсулированного образца «Русские корни» их РПФ имеют 19

общих компонентов с присутствием ключевых соединений иссопа лекарственного, что даже несмотря на наглядную разницу в спектрах позволяет отнести эти образцы к виду иссопа лекарственного при «слепом» определении.

В результате, предложенным способом были установлены предпочтительные условия получения РПФ иссопа лекарственного (время – 20-30 минут, температура – 80 °С) и показана эффективность предложенного метода ПФА-ГХ в исследовании четырех образцов ЛРС иссопа лекарственного различного происхождения. По результатам исследования получены хроматограммы равновесной паровой фазы образцов, проведена идентификация компонентов по библиотеке индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца при программировании температуры, библиотеки масс-спектров базы данных NIST и литературным данным. Установлено, что предложенный метод позволяет определять специфические летучие компоненты ЛРС (β -пинен, пинокамфон, изопинокамфон для иссопа лекарственного) для идентификации и определения подлинности ЛРС и отличать их профили по районам произрастания. Построены диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» летучих соединений ЛРС иссопа лекарственного (ПФА-спектры), которые представляют собой уникальный совокупный образ растения.

3.1.4 Змееголовник молдавский

Газовую экстракцию из растительного сырья змееголовника молдавского проводили при температурах от 40 до 140 °С с интервалом в 20 °С в течение 5-40 минут. Газохроматографический эксперимент проводился с применением капиллярной колонки с малополярной неподвижной фазой 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксана в режиме линейного программирования температуры.

Изучено влияние температуры и времени газовой экстракции летучих компонентов ЛРС змееголовника молдавского в паровую фазу на примере образца, выращенного на территории ВИЛАР. По мере увеличения температуры экстракции происходит увеличение числа пиков компонентов РПФ от 15 до 135 (время экстракции 20 минут). На рисунке 25 видно, что при повышении температуры

экстракции до 100 °С происходит заметный рост числа пиков компонентов, представленных легко-, средне- и труднолетучими соединениями.

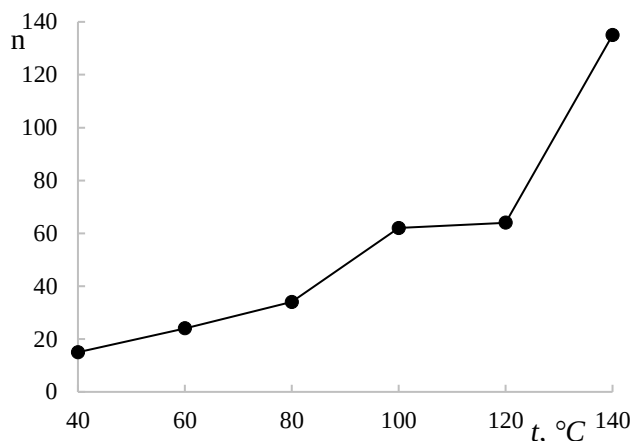


Рисунок 25 – Влияние температуры газовой экстракции ЛРС змееголовника молдавского на число выделившихся в паровую фазу летучих компонентов (время экстракции 20 минут)

При температуре проведения газовой экстракции равной 140 °С происходит резкое увеличение числа зарегистрированных пиков РПФ более чем в 2 раза, по сравнению с температурами 100-120 °С, однако при этом сильно возрастает вклад в относительное содержание РПФ пиков, расположенных на начальном участке хроматографического профиля, что указывает на изменение действительного состава летучих компонентов ЛРС и изменяет общую картину распределения компонентов. Хроматограммы РПФ змееголовника молдавского (ВИЛАР) полученные при температурах экстракции 100 °С и 140 °С представлены на рисунке 26. При этом диапазон индексов удерживания компонентов, выделившихся в паровую фазу при температуре 40 °С составляет 445-1503 ед. индекса, незначительно возрастая при 100 °С до 334-1517 ед. индекса, тогда как экстракция при 140 °С увеличивает верхний предел до 362-1611 ед. индекса, который представлен следами соединений с относительным содержанием менее 0,03 %.

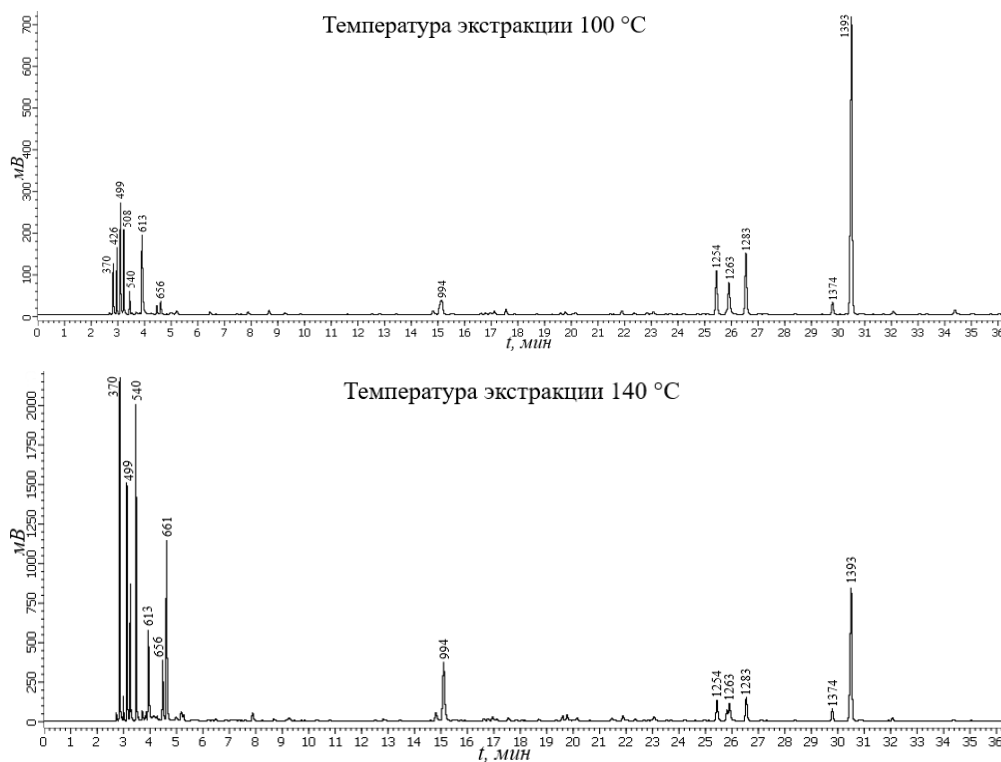


Рисунок 26 – Хроматограммы РПФ образца змееголовника молдавского (ВИЛАР), полученные методом ПФА-ГХ-ПВД (колонка RTX-5 30 м×0,32 мм×0,25 мкм) в условиях программирования температуры, при температуре экстракции 100 °C и 140 °C (время экстракции 20 мин)

Аналогично предыдущим образцам, состав паровой фазы достигает равновесия в течение 20 минут (при температуре 100 °C), рисунок 27.

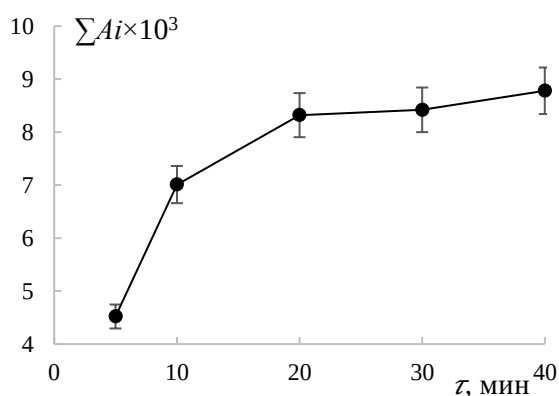


Рисунок 27 – Влияние продолжительности газовой экстракции ЛРС змееголовника молдавского (ВИЛАР) на общее содержание летучих компонентов в паровой фазе (температура экстракции 100 °C)

В качестве легколетучего компонента, для определения подходящих температур газовой экстракции из сухого сырья, было выбрано вещество этилацетат ($I_i^T = 609$), присутствующее в паровой фазе уже при 40 °С. На рисунке 28 (кривая 1) приведена зависимость отношений абсолютных площадей пиков (A_i/A_{st}) труднолетучего i -компонента геранилацетата ($I_i^T = 1393$) и легколетучего этилацетата от температуры газовой экстракции.

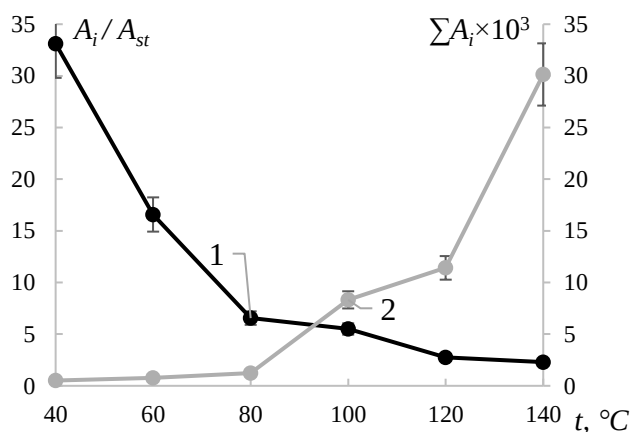


Рисунок 28 – Зависимости отношения площадей пиков (A_i/A_{st}) геранилацетата ($I_i^T = 1393$) и этилацетата ($I_i^T = 609$) (кривая 1) и суммы абсолютных площадей пиков всех компонентов (ΣA_i) от температуры газовой экстракции ЛРС змееголовника молдавского (ВИЛАР) (кривая 2); время экстракции 20 мин

Таким образом, на основании проведенных исследований подходящими условиями проведения газовой экстракции змееголовника молдавского были приняты следующие значения: время – 20-30 минут, температура – 100-120 °С. При таких условиях возможно получение информативного газохроматографического профиля летучих компонентов РПФ, который наиболее близко отражает действительный состав ЛРС без химического превращения компонентов. В этой работе РПФ змееголовника молдавского получали при температуре 100 °С в течение 20 минут.

Диапазон температур кипения идентифицированных компонентов РПФ змееголовника молдавского составил от 299 К (пентадиен-1,4) до 535 К (γ -кадинен). Зависимость индекса удерживания Ван ден Доола и Кратца при линейном программировании температуры колонки (I_i^T) от температуры кипения компонентов

паровой фазы T_b , К, подтверждающая правильность идентификации, приведена на рисунке 29.

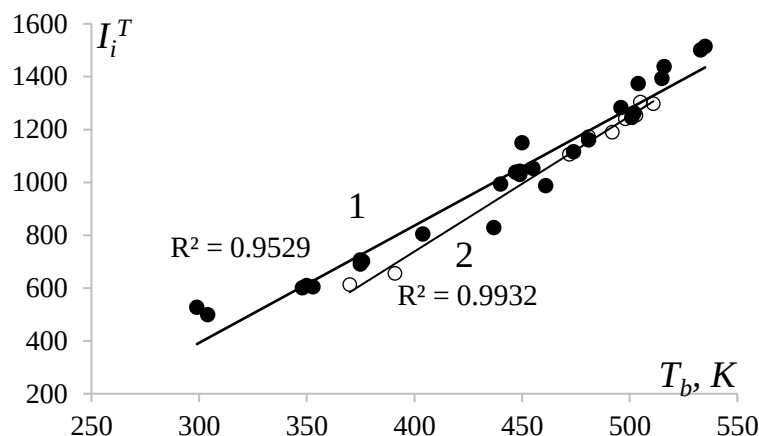


Рисунок 29 – Зависимость индекса удерживания Ван ден Доола и Кратца (I_i^T) от температуры кипения (T_b , К) идентифицированных компонентов РПФ змееголовника молдавского: 1 – компоненты РПФ за исключением спиртов, 2 – спирты

В работе был исследован образец змееголовника молдавского выращенного на территории Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) в 2023 году. Анализ этого ЛРС проводили спустя год, спустя два и спустя три года хранения (в 2024, 2025 и 2026 году) в целях определения степени деградации летучих компонентов растения при длительном хранении и возможности проведения видовой идентификации с течением времени.

На хроматограмме РПФ змееголовника молдавского (ВИЛАР), полученной в 2024 году, зарегистрировано 62 летучих компонента с временами удерживания от 2,83 до 35,05 минут и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 370 до 1517 ед. индекса. Доминирующим компонентом образца является геранилацетат (1393), содержание которого в паровой фазе составляет 39,16 %. Это сложный терпеновый эфир с мягким лимонно-мятным ароматом, который используют в медицине, в качестве успокаивающего и нейропротекторного средства, и в парфюмерии.

Среди летучих компонентов РПФ змееголовника молдавского (ВИЛАР), полученной в 2025 году, зарегистрировано 38 соединений с временами удерживания от 2,83 до 34,36 минут и рассчитанными индексами удерживания I_i^T

от 370 до 1502 ед. индекса. Доминирующим компонентом РПФ является пентадиен-1,4 (527; 21,02 %) и 2-метил-3-бутен-2-ол (613; 19,45 %). Алкен пентадиен-1,4 является структурным фрагментом полиненасыщенных жирных кислот, содержащихся в растениях (например, линолевая и α -линоленовая), который образуется чистом виде в процессе старения и разложения компонентов.

В РПФ змееголовника молдавского (ВИЛАР), полученной в 2026 году обнаружено 30 летучих соединений. Богатый спектр высококипящих биоактивных веществ был практически полностью утерян. Времена удерживания зарегистрированных компонентов от 2,83 до 30,49 минут, рассчитанные индексы удерживания I_i^T от 370 до 1393 ед. индекса. Доминантным по содержанию является 2-метил-3-бутен-2-ол (613; 29,89 %). Их составы представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Относительные содержания компонентов РПФ образца змееголовника молдавского (ВИЛАР, сбор 2023 г) полученные в 2024, 2025 и 2026 годах (экстракция при 100 °С, 20 мин)

I_i^T	Соединение	$A_{отн, i} \%$		
		ВИЛАР (сбор 2023 г)		
		анализ в 2024 г	анализ в 2025 г	анализ в 2026 г
370	—	2,85	6,32	10,90
426	—	3,10	0,14	—
499	2-Метилбутен-1 ^{а,б}	5,80	11,04	5,12
508	—	4,63	12,13	19,90
527	Пентадиен-1,4 ^{а,б}	—	21,02	4,35
540	—	1,29	0,67	0,61
561	—	0,12	9,04	5,70
583	—	0,12	0,12	1,27
601	Бутаналь ^{а,б}	0,10	0,28	0,33
605	Бутанон-2 ^{а,б}	—	0,14	0,84
609	Этилацетат ^{а,б}	—	0,18	2,07
613	2-Метил-3-бутен-2-ол ^{а,б}	7,12	19,45	29,89
639	—	0,03	0,17	0,52
646	—	0,65	0,10	0,34
656	н-Бутанол ^{а,б}	1,02	1,47	2,22
666	—	—	3,82	4,36
691	2-Пентанон ^{а,б}	0,18	0,31	0,24

Продолжение таблицы 8

702	Пентаналь^{а,б}	0,43	0,15	0,36
707	1,1-Дизтоксизтан ^{а,б}	—	0,25	1,37
752	—	0,25	0,36	0,29
804	Гексаналь ^{а,б}	0,32	—	1,99
829	Бутановая к-та^{а,б}	0,43	0,53	0,52
844	—	0,24	0,31	0,22
987	6-Метил-5-гептен-2-он ^{а,б,в}	0,58	0,25	—
994	β-Мирицен^{а,б,в}	3,54	1,52	2,09
1030	(Z)- β -Оцимен ^{а,б,в}	0,14	0,39	—
1034	Эвкалиптол ^{а,б,в}	0,23	—	—
1038	β -Терпинен ^{а,б,в}	0,27	—	—
1042	(E)- β -Оцимен ^{а,б,в}	0,45	—	—
1053	γ -Терпинен ^{а,б,в}	0,66	—	—
1104	—	0,21	0,14	—
1106	Линалоол ^{а,б,в}	0,30	—	—
1116	3-Туйанон ^{а,б,в}	0,18	—	—
1150	α -Оцимен ^{а,б,в}	0,10	—	—
1161	Цитронеллаль ^{а,б,в}	0,52	—	—
1173	цис-Хризантенол ^{а,б,в}	0,18	—	—
1185	—	0,22	—	—
1190	α -Терпинеол ^{а,б,в}	0,49	—	—
1206	—	0,14	0,24	—
1221	—	0,13	—	—
1236	—	0,10	—	—
1241	Цитронеллол ^{а,б,в}	0,16	—	—
1245	Нераль ^{а,б,в}	0,13	—	—
1254	Гераниол^{а,б,в}	5,86	0,71	0,46
1263	Гераниаль ^{а,б,в}	5,12	0,69	—
1283	Борнилацетат^{а,б,в}	8,09	0,79	0,43
1298	Карвакрол ^{а,б,в}	0,13	—	—
1304	Тимол ^{а,б,в}	0,18	0,22	—
1334	—	0,13	—	—
1374	Нерилацетат ^{а,б,в}	1,58	0,22	—
1393	Геранилацетат^{а,б,в}	39,16	4,83	1,89
1402	—	0,11	—	—
1404	—	0,08	—	—
1438	α -Гуайен ^{б,в}	0,43	—	—
1501	Бициклогермакрен ^{б,в}	0,73	0,18	—
1515	γ -Кадинен ^{б,в}	0,16	—	—

Примечание: идентификацию проводили: (а) ГХ-МС, (б) база данных NIST [157], (в) литературные данные [124, 126, 130-135].

При сравнении состава образца змееголовника молдавского (ВИЛАР) в процессе его хранения наглядно прослеживается тенденция потери терпеновых соединений и их разложение на легколетучие составляющие, которая также наблюдалась для изученных образцов котовника кошачьего. Так, характерный для змееголовника молдавского доминантный компонент геранилацетат (1393), присутствующий в нем в большом количестве, теряет преобладающую долю своего содержания в РПФ с 39,16 % до 4,48 % в течение двух лет хранения. Спустя три года он все еще присутствует в ЛРС, но в еще меньшем количестве – 1,89 %, что сильно затрудняет определение видовой принадлежности сырья. Аналогичная зависимость прослеживается для гераниола (1254), гераниала (1263) и борнилацетата (1283). Деградация средне- и труднолетучих соединений приводит к образованию новых легких соединений, доля которых в сырье начинает преобладать. Так, 2-метил-3-бутен-2-ол (613) изначально присутствовавший в РПФ в количестве 7,12 % к 2026 году увеличил долю содержания до 29,89 %. Такая же зависимость наблюдается для неидентифицированных компонентов с индексами удерживания 508 и 370. Такой рост обусловлен окислительным разложением терпеноидов, сесквитерпенов и других соединений, содержащихся в растении. Компонент пентадиен-1,4 (527), отсутствовавший в змееголовнике, спустя два года хранения составлял 1/5 часть от состава РПФ – 21,02 %, однако спустя три года его содержание упало 4,35 %. Этот компонент является маркером расщепления нелетучих полиненасыщенных жирных кислот, входящих в состав растений [167] и его спад указывает на значительное уменьшение содержания таких кислот в сырье и дальнейшее снижение его биологической ценности.

Таким образом, применение метода ПФА-ГХ для исследования ЛРС позволяет судить о сроке его хранения на основании зависимостей накопления и потери компонентов РПФ. При этом делать вывод о видовой принадлежности ЛРС по «отпечатку пальца» и специфическим маркерам есть смысл только для свежего сырья, до потери им большей части соединений, однако более подробное изучение особенностей превращения тех или иных летучих компонентов, возможно,

позволит расширить возможности видовой идентификации сырья с помощью этого метода, что может служить основой для будущих исследований.

Помимо образца змееголовника молдавского выращенного на территории ВИЛАР были исследованы две партии промышленного образца производства «Хорст» (Алтайский край) 2023 и 2024 года выпуска. Составы их РПФ представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Относительное содержание зарегистрированных компонентов РПФ образца змееголовника молдавского (Хорст) 2023 и 2024 года выпуска (экстракция при 100 °С, 20 мин)

I_i^T	Соединение	$A_{отн, i} \%$	
		Хорст	
		2023 г выпуска	2024 г выпуска
370	—	26,08	—
441	—	5,16	0,73
499	2-Метилбутен-1^{а,б}	12,32	26,88
508	—	5,86	—
527	Пентадиен-1,4 ^{а,б}	—	1,44
540	—	14,60	11,12
561	—	1,18	4,10
583	—	0,40	0,76
601	Бутаналь ^{а,б}	—	15,42
605	Бутанон-2 ^{а,б}	—	0,86
613	2-Метил-3-бутен-2-ол^{а,б}	5,77	0,39
639	—	—	3,06
656	н-Бутанол ^{а,б}	11,64	—
666	—	12,56	14,55
691	2-Пентанон ^{а,б}	—	15,01
715	—	—	1,12
779	Метил-2-метилбутират ^{а,б}	—	0,43
804	Гексаналь ^{а,б}	—	0,94
829	Бутановая к-та	1,35	0,82
994	β-Мирцен^{а,б,в}	1,46	0,39
1263	Гераниаль ^{а,б,в}	1,06	—
1374	Нерилацетат ^{а,б,в}	—	0,66

Примечание: идентификацию проводили: (а) ГХ-МС, (б) база данных NIST [157], (в) литературные данные [124, 126, 130-135].

На хроматограмме РПФ змееголовника молдавского (Хорст) 2023 года выпуска зарегистрировано 14 летучих компонентов с временами удерживания от 2,84 до 25,8 минут и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 370 до 1263 ед. индекса. Доминирующим компонентом образца является неидентифицированное вещество с индексом удерживания 370, содержание которого в паровой фазе составляет 26,08 %.

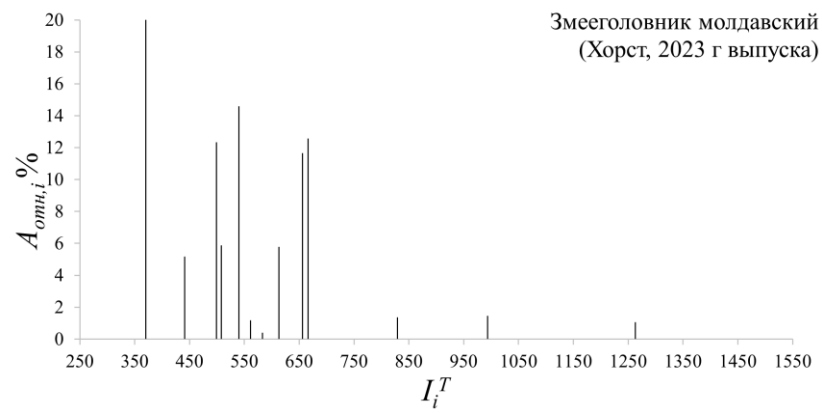
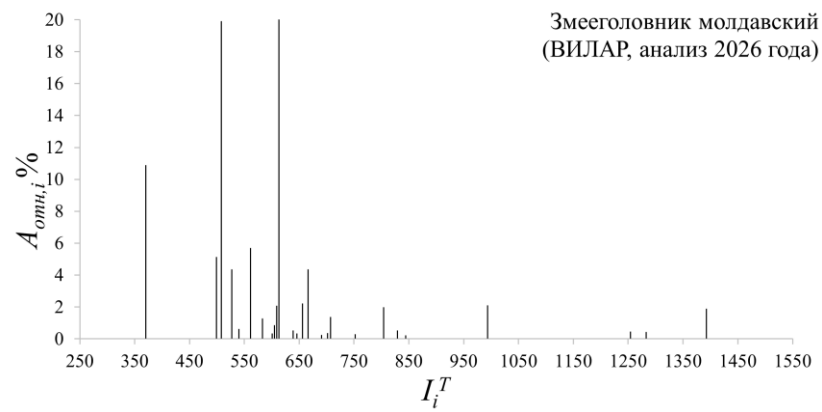
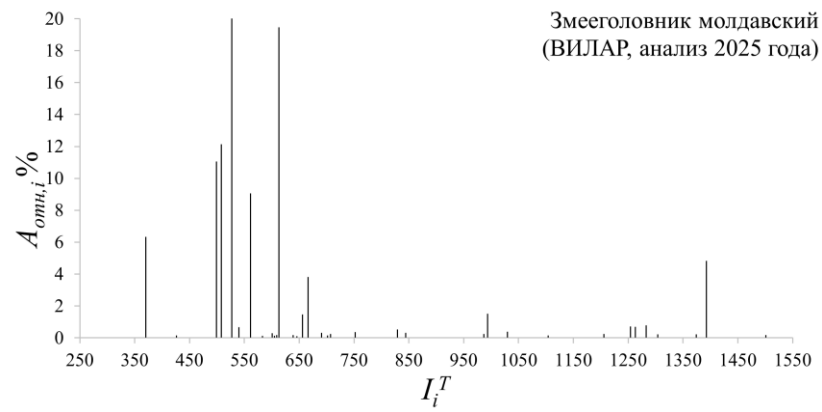
РПФ змееголовника молдавского (Хорст) 2024 года выпуска содержит 20 летучих компонентов с временами удерживания от 2,99 до 28,62 минут и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 441 до 1374 ед. Доминирующим по содержанию является 2-метилбутен-1 (499) с относительным содержанием в РПФ в 26,88 %.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что сырье этих образцов содержит крайне малое количество средне- и труднолетучих соединений. Стоит отметить, что покупка этих образцов производилась через интернет-магазин официального торгового партнера и оба раза при заказе был получен товар произведенный около полутора лет назад (при заявленном на упаковке сроке хранения ЛРС в 2 года от даты производства). В целом, состав РПФ змееголовника молдавского (Хорст) можно сопоставить с составом образца ВИЛАР, проанализированного после двух-трех лет хранения. Доминирующее содержание низкокипящих компонентов указывает на разложение терпеновых соединений. Помимо этого, зелено-желтый цвет сырья является признаком некорректной сушки с превышением рекомендуемого температурного режима. Разница в доминантных компонентах с состарившимися образцами ВИЛАР связана с различиями в исходном компонентном составе этих растений ввиду особенностей районов и условий их произрастания.

Во всех проанализированных образцах змееголовника молдавского различного происхождения суммарно обнаружено девять общих соединений: 2-метилбутен-1 (499), пентадиен-1,4 (527), 2-метил-3-бутен-2-ол (613), бутановая кислота (829), β -мирцен (994) и неидентифицированные компоненты с индексами удерживания 540, 561, 583 и 666.

По полученным результатам можно сделать вывод, что эффективность проведения идентификационного определения видовой принадлежности методом ПФА-ГХ значительно выше при исследовании ЛРС со сроком хранения не более одного года, когда в сырье сохраняются характерные для этого растения ключевые летучие вещества. Согласно литературе, для змееголовника молдавского такими веществами являются геранилацетат, нерилацетат, гераниол и гераниаль. Эти вещества, как правило, вносят основной вклад в полезные свойства и состав эфирных вытяжек змееголовника молдавского и придают растению характерный лимонно-мятный аромат [130, 132, 134]. Именно высокое содержание геранилацетата (39,16%) позволяет отнести исследованный образец к виду змееголовника молдавского, что является его характерным маркерным признаком. Относительное содержание нерилацетата, гераниола и гераниаля может варьировать в зависимости от географического происхождения, стадии роста, условий культивирования и хемотипических особенностей. Полученные результаты состава РПФ змееголовника молдавского согласуются с данными других работ, в которых проводилось изучение эфирных масел данного вида методом ГХ-МС [124, 126, 130-135]. Так, геранилацетат, гераниол, гераниаль, нераль обнаружены в эфирных маслах змееголовника молдавского, произрастающего на территории Сербии, Ирана, Египта, Беларуси и Китая. Нерилацетат идентифицирован в образцах из Сербии и Египта. β -Мирцен, линалоол, цитронеллаль, гексаналь, бутановая кислота отмечены в эфирном масле змееголовника из Ирана.

Для визуализации экспериментальной информации в виде «отпечатка пальца» были построены диаграммы «относительная площадь пика-индекс удерживания» или ПФА-спектры (рисунок 30).



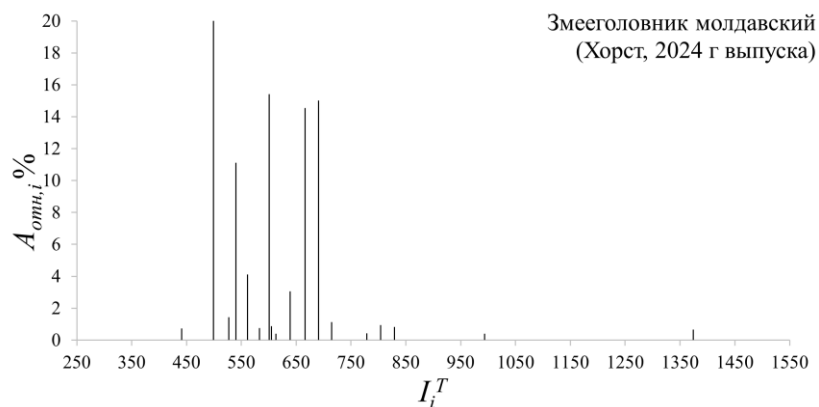


Рисунок 30 – Диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» (ПФА-спектры) образцов змееголовника молдавского ВИЛАР сбора 2023 г (по годам анализа) и Хорст (2023 и 2024 годов выпуска); экстракция при 100 °С, 20 мин

ПФА-спектр ЛРС змееголовника молдавского (ВИЛАР), полученный после года хранения все еще может использоваться для идентификации видовой принадлежности растения, поскольку содержит множество летучих соединений характерных для вида змееголовника молдавского. Спектры, полученные в последующие годы, наглядно показывают процесс распада средне- и труднолетучих соединений и их превращение в легколетучие в процессе хранения. ПФА-спектры ЛРС змееголовника молдавского (Хорст) ясно демонстрируют их бедный состав, по причине отсутствия в их составе средне- и труднолетучих биологически активных компонентов и также указывают на систематический выпуск такой продукции производителем.

Предложенным способом были установлены предпочтительные условия получения РПФ змееголовника молдавского (время – 20-30 минут, температура – 100-120 °С) и показана эффективность предложенного метода ПФА-ГХ в исследовании ЛРС змееголовника молдавского производства ВИЛАР (в течение трех лет хранения) и производства Хорст 2023 и 2024 годов выпуска. По результатам исследования получены хроматограммы РПФ образцов, проведена идентификация компонентов по библиотеке индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца при программировании температуры, библиотеки масс-спектров базы данных NIST и литературным данным. Метод ПФА-ГХ успешно применен для изучения

деградации состава летучих компонентов ЛРС при длительном хранении (на примере змееголовника молдавского ВИЛАР). Кроме того, предложенный подход позволяет отслеживать специфичные особенности изменения состава летучих компонентов растений с течением времени, в зависимости от их исходного состава, что подтверждает его перспективность в определении видовой принадлежности. В образце ВИЛАР обнаружены компоненты, наличие которых позволяет сделать вывод о принадлежности сырья к виду змееголовника молдавского (геранилацетат, гераниаль, гераниол). Построены диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» летучих соединений ЛРС змееголовника молдавского (ПФА-спектры), которые представляют собой уникальные совокупные образы растения. Экспериментально подтверждена способность предложенного метода ПФА-ГХ фиксировать обеднение состава средне- и труднолетучих терпеновых соединений в процессе хранения ЛРС. Это обосновывает применимость разработанного хроматографического подхода для объективного контроля стабильности сырья и оценки влияния технологических факторов заготовки (сушки, хранения) на его состав.

3.1.5 Лаванда узколистная

Газовую экстракцию из ЛРС лаванды узколистной проводили при температурах от 40 до 140 °С с интервалом в 20 °С в течение 5-40 минут. Газохроматографический эксперимент проводился с применением капиллярной колонки с малополярной неподвижной фазой 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксана в режиме линейного программирования температуры.

Изучено влияние температуры и времени газовой экстракции летучих компонентов ЛРС лаванды узколистной в паровую фазу на примере ботанического образца сбора 2023 года. По мере увеличения температуры экстракции происходит увеличение числа пиков компонентов РПФ от 35 до 138 (время экстракции 20 минут). На рисунке 31 видно, что при повышении температуры экстракции до 120 °С происходит резкий рост числа пиков компонентов на всех участках газохроматографического профиля с увеличением доли содержания в РПФ

низкокипящих компонентов РПФ ($I_i^T < 700$ ед.), что указывает на изменение действительного состава летучих компонентов ЛРС.

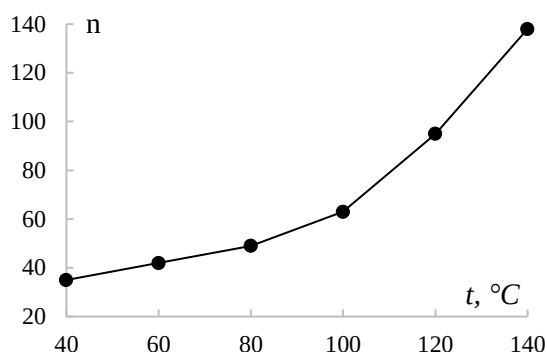


Рисунок 31 – Влияние температуры газовой экстракции ЛРС ботанической лаванды узколистной (сбор 2023 года) на число выделившихся в паровую фазу летучих компонентов (время экстракции 20 минут)

Диапазон индексов удерживания компонентов, выделившихся в паровую фазу, составляет 322-1296 ед. индекса и практически не изменяется с изменением температуры экстракции.

Состав паровой фазы лаванды узколистной при температуре $100\text{ }^\circ\text{C}$ достигает равновесия в течение 20 минут (рисунок 32).

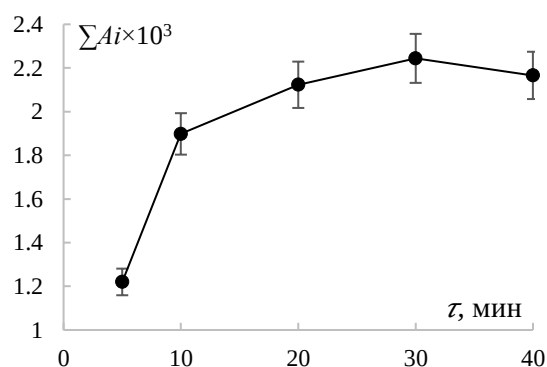


Рисунок 32 – Влияние продолжительности газовой экстракции ЛРС ботанического образца лаванды узколистной (сбор 2023 года) на общее содержание летучих компонентов в паровой фазе (температура экстракции $80\text{ }^\circ\text{C}$)

В качестве легколетучего компонента было выбрано вещество 2-метилбутаналь ($I_i^T = 652$), присутствующее в паровой фазе уже при 40 °С. На рисунке 33 (кривая 1) приведена зависимость отношений абсолютных площадей пиков (A_i/A_{st}) i -компонента β -терпинена ($I_i^T = 1038$) и легколетучего компонента 2-метилбутанала от температуры газовой экстракции.

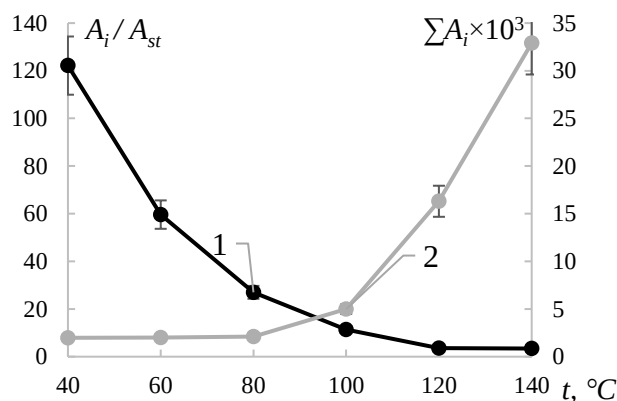


Рисунок 33 – Зависимости отношения площадей пиков (A_i/A_{st}) β -терпинена ($I_i^T = 1038$) и 2-метилбутанала ($I_i^T = 652$) (кривая 1) и суммы абсолютных площадей пиков всех компонентов (ΣA_i) от температуры газовой экстракции ЛРС ботанического образца лаванды узколистной (сбор 2023 года) (кривая 2); время экстракции 20 мин

На основании проведенных исследований подходящими условиями проведения газовой экстракции лаванды узколистной были приняты следующие значения: время – 20-30 минут, температура – 80-100 °С. При таких условиях возможно получение информативного газохроматографического профиля летучих компонентов РПФ, который наиболее близко отражает действительный состав ЛРС без химического превращения компонентов. В этой работе РПФ лаванды узколистной получали при температуре 80 °С в течение 20 минут.

Диапазон температур кипения идентифицированных компонентов РПФ лаванды узколистной составил от 293 К (3-метилбутен-1) до 537 К (кариофиллен оксид). Зависимость индекса удерживания Ван ден Доола и Кратца при линейном программировании температуры колонки (I_i^T) от температуры кипения компонентов паровой фазы T_b , К приведена на рисунке 34.

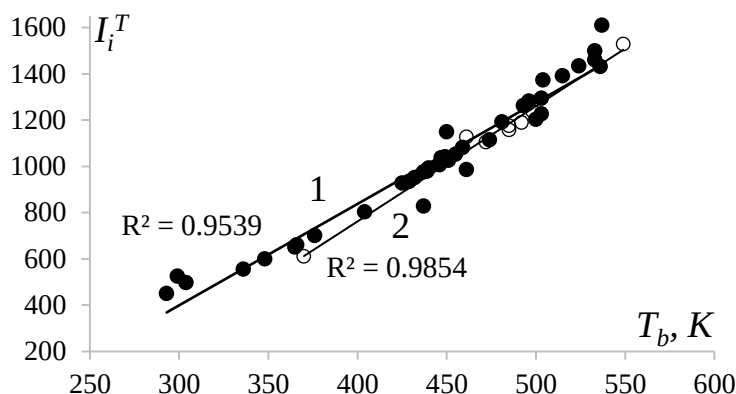


Рисунок 34 – Зависимость индекса удерживания Ван ден Доола и Кратца (I_i^T) от температуры кипения (T_b , K) идентифицированных компонентов РПФ лаванды узколистной: 1 – компоненты РПФ за исключением спиртов, 2 – спирты

Представляло интерес выяснить экспериментально, насколько большой вклад в насыщенность ЛРС терпеновыми биоактивными соединениями вносит примесь стеблевой части эфирномасличного растения. В работе были исследованы два образца состоящие из разных органов растения (цветки и листья; стебли и листья) полученных из ботанического образца лаванды узколистной (г. Самара), собранной в 2023 году. Идентификацию компонентов проводили по библиотеке индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца при программировании температуры, библиотеки масс-спектров базы данных NIST и литературным данным.

На хроматограмме РПФ цветков и листьев ботанической лаванды узколистной зарегистрировано 76 летучих компонентов с временами удерживания от 2,82 до 39,36 минут и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 322 до 1611 ед. индекса. Доминирующим компонентом образца является линалилацетат (1264), содержание которого в паровой фазе составляет 23,45 %. Это терпеноид, обладающий характерным лавандовым ароматом, применяется в парфюмерии и медицине благодаря своим выраженному спазмолитическому, противовоспалительному и успокаивающему воздействию. Хроматограмма этого образца приведена на рисунке 35.

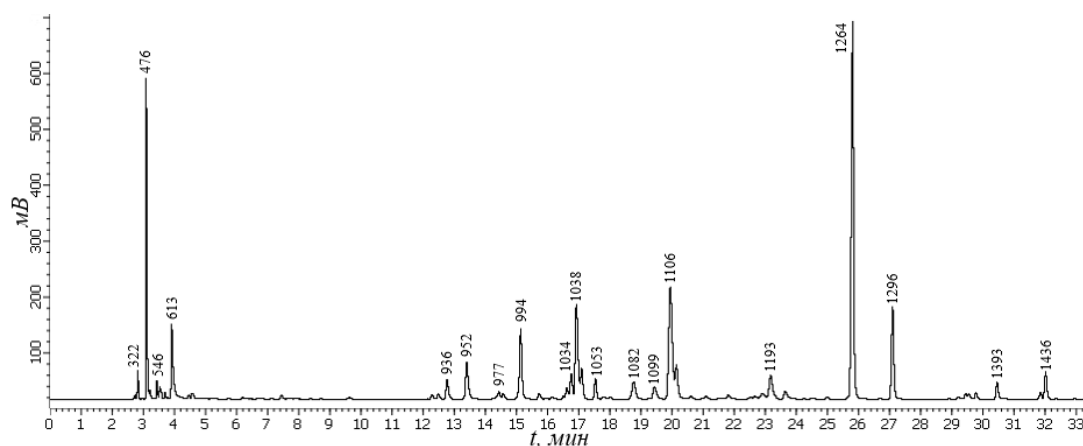


Рисунок 35 – Хроматограмма РПФ ботанического образца лаванды узколистной (цветки и листья), полученная методом ПФА-ГХ-ПВД (колонка RTX-5 30 м×0,32 мм×0,25 мкм) в условиях программирования температуры (экстракция при 80 °С, 20 мин)

Среди летучих компонентов РПФ стеблей и листьев ботанической лаванды узколистной зарегистрировано 48 соединений с временами удерживания от 2,82 до 27,05 минут и рассчитанными индексами удерживания I_i^T от 322 до 1296 ед. индекса. Доминирующими компонентами РПФ являются: 2-метилбутен-1 (499; 14,51 %), камфен (952; 13,39 %) и β -терпинен (1038; 13,99 %). Терпены камфен и β -терпинен широко используются в парфюмерии благодаря своему древесно-хвойному аромату. Их применение в медицине обусловлено их противовоспалительными и антисептическими свойствами.

Данные из таблицы 10 по относительному содержанию компонентов РПФ образцов лаванды узколистной демонстрируют, что в ее цветках содержится значительно больше средне- и труднолетучих терпеновых соединений, по сравнению со стеблями, что согласуется с фармакогностическими данными о том, что стебли эфирномасличных растений содержат очень мало эфирных масел.

Таблица 10 – Относительное содержание зарегистрированных компонентов РПФ ботанического образца лаванды узколистной (г. Самара), полученных из цветков/листьев и стеблей/листьев (экстракция при 80 °С, 20 мин)

I_i^T	Соединение	$A_{отн, i} \%$	
		Ботанический образец	
		цветки, листья	стебли, листья
322	—	0,79	0,16
403	—	—	1,46
452	3-Метилбутен-1 ^{а,б}	0,04	1,12
476	—	9,88	—
499	2-Метилбутен-1 ^{а,б}	0,35	14,51
527	Пентадиен-1,4 ^{а,б}	0,04	0,53
546	—	0,54	—
557	2-Метилпропаналь ^{а,б}	0,36	1,22
569	—	0,31	0,27
584	—	0,25	2,29
601	Бутаналь ^{а,б}	0,05	0,36
613	2-Метил-3-бутен-2-ол ^{а,б}	4,08	4,45
628	—	0,07	0,16
652	2-Метилбутаналь ^{а,б}	0,13	0,53
662	3-Метилбутаналь ^{а,б}	0,22	1,42
702	Пентаналь ^{а,б}	—	0,36
740	—	0,08	0,42
768	—	—	1,30
789	—	0,22	—
804	Гексаналь ^{а,б}	—	0,26
819	—	0,04	0,24
829	Бутановая к-та ^{а,б}	0,03	0,23
853	—	0,13	—
922	—	—	0,41
924	—	0,30	1,75
929	α -Трициклен ^{а,б}	0,33	2,10
936	α -Пинен ^{а,б}	1,35	7,73
952	Камфен ^{а,б}	2,87	13,39
975	—	—	1,77
977	Сабинен ^{а,б}	0,69	0,80
981	β -Пинен ^{а,б}	0,38	1,43
987	6-Метил-5-гептен-2-он ^{а,б,в}	—	0,57
992	—	—	1,26
994	β -Мирцен ^{а,б,в}	4,80	0,46
1008	α -Фелландрен ^{а,б,в}	0,37	—
1014	—	0,09	2,08

Продолжение таблицы 10

1018	—	0,20	0,21
1027	Лимонен ^{а,б,в}	0,17	1,27
1030	(Z)- β -Оцимен ^{а,б,в}	0,72	3,01
1034	Эвкалиптол ^{а,б,в}	1,69	5,71
1038	β -Терпинен ^{а,б,в}	7,24	13,99
1042	(E)- β -Оцимен ^{а,б,в}	2,05	0,55
1053	γ -Терпинен ^{а,б,в}	1,25	0,45
1059	—	0,26	—
1064	—	0,17	—
1082	α -Терпинолен ^{а,б,в}	1,80	0,23
1099	—	1,25	—
1106	Линалоол ^{а,б,в}	10,80	2,24
1116	3-Туйанон ^{а,б,в}	2,73	0,97
1128	3,4-Диметилциклогексанол ^{а,б}	0,27	—
1141	—	0,26	—
1150	α -Оцимен ^{а,б,в}	0,10	—
1159	Изоборнеол ^{а,б,в}	0,38	0,78
1177	Терпинен-4-ол ^{а,б,в}	0,13	—
1181	—	0,25	0,78
1190	α -Терпинеол ^{а,б,в}	0,68	0,42
1193	Гексилбутират ^{а,б,в}	2,40	—
1205	Вербенон ^{а,б,в}	0,85	0,40
1228	Изоборнилформиат ^{а,б,в}	0,09	—
1241	Цитронеллол ^{а,б,в}	0,14	—
1264	Линалилацетат ^{а,б,в}	23,45	3,26
1273	—	0,15	—
1283	Борнилацетат ^{а,б,в}	0,08	—
1296	Лавандулилацетат ^{а,б,в}	5,84	0,49
1364	—	0,42	—
1367	—	0,39	—
1374	Нерилацетат ^{а,б,в}	0,46	—
1393	Геранилацетат ^{а,б,в}	1,12	—
1433	α -Кариофиллен ^{а,б,в}	0,43	—
1436	Лавандулил изобутират ^{а,б,в}	1,76	—
1462	β -Фарнезен ^{а,б,в}	0,09	—
1501	Бициклогермакрен ^{а,б,в}	0,08	—
1530	Неролидол ^{а,б,в}	0,12	—
1611	Кариофиллен оксид ^{а,б,в}	0,16	—

Примечание: идентификацию проводили: (а) ГХ-МС, (б) база данных NIST [157], (в) литературные данные [138-146].

Так в пробе с цветками лаванды узколистной обнаружены в достаточном количестве характерные специфичные компоненты линалилацетат (1264; 23,45 %), линалоол (1106; 10,8 %), лавандулил ацетат (1296; 5,84 %) и лавандулил изобутират (1436; 1,76 %), позволяющие отнести проанализированное растительное сырье к виду лаванда узколистная, которые в стеблях присутствуют в значительно меньшем количестве (линалилацетат 3,26 %), либо отсутствуют вовсе. Помимо ключевых соединений лаванды в стеблях нет множества других соединений среднего и конечного участка газохроматографического профиля, что в итоге влияет на состав производимого ЛРС. Это подтверждает полученные ранее результаты исследования промышленных образцов других растений, в сырье которых присутствовало значительное количество измельченных стеблей, а состав их РПФ в основном был представлен низкокипящими соединениями начального участка газохроматографического профиля.

Результаты исследования ботанического образца лаванды узколистной согласуются с данными других работ, в которых проводилось изучение составов эфирных масел и ЛРС методами ПФА, ГХ-МС и ГХ-ПИД. Таким образом, линалилацетат, линалоол, лавандулилацетат, α -пинен, β -пинен, β -мирцен, эвкалиптол, γ -терпинен, геранилацетат, α -терпинеол обнаружены в эфирных маслах лаванды узколистной из Индии, Ирана, Турции, Италии, Алжира, Словакии и Польши [138-146]. Лавандулилизобутират, 3-туйанон, гексилбутират, вербенон идентифицированы в качестве компонентов эфирного масла лаванды из Турции и Алжира [141, 143]. β -Терпинен, α -терпинолен, изоборнеол, кариофилленоксид присутствуют в эфирных маслах лаванды из Индии, Италии и Словакии [138, 142, 146].

Для визуализации экспериментальной информации в виде «отпечатка пальца» были построены диаграммы «относительная площадь пика-индекс удерживания» или ПФА-спектры (рисунок 36).

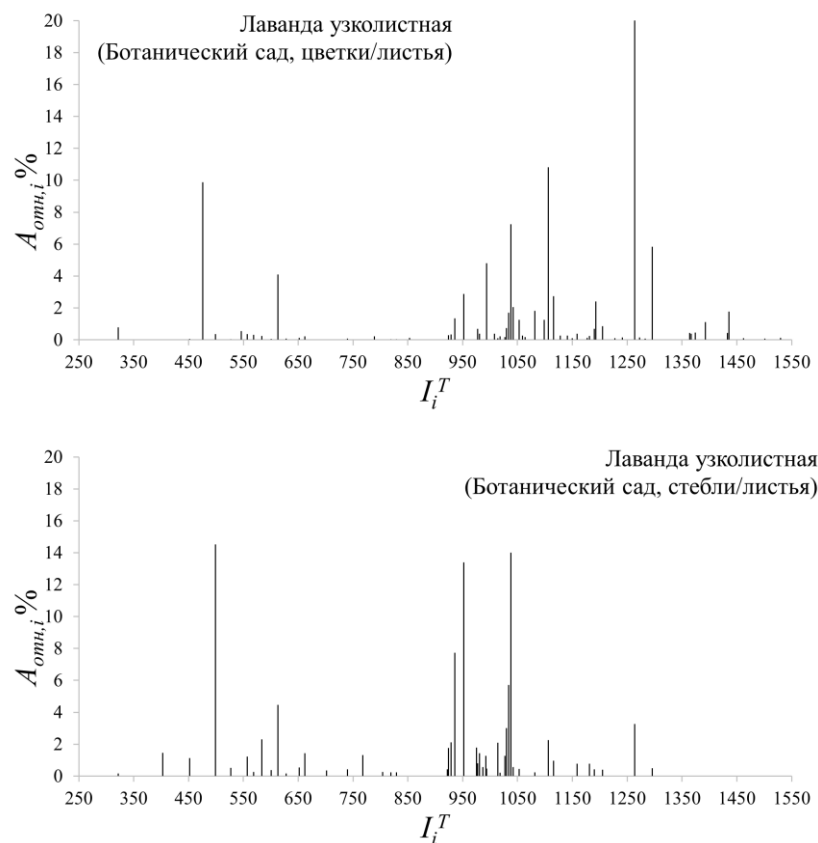


Рисунок 36 – Диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» (ПФА-спектры) РПФ ботанического образца лаванды узколистной (г. Самара), полученных из цветков/листьев и стеблей/листьев; экстракция при 80 °С, 20 мин

По ПФА-спектрам видно перераспределение компонентов РПФ с преимущественно труднолетучих, содержащихся в цветках и придающих лаванде ее характерный запах, в сторону легко- и среднелетучих, содержащихся в стебле, который, в отличие от цветков, обладает древесно-терпким ароматом [168].

Таким образом, предложенным способом были установлены предпочтительные условия получения РПФ лаванды узколистной (время – 20-30 минут, температура – 80-100 °С) и показана эффективность предложенного метода ПФА-ГХ в исследовании групп органов (цветки/листья, стебли/листья) ЛРС на примере лаванды узколистной (Ботанический сад, г. Самара). По результатам исследования получены хроматограммы РПФ образцов, проведена идентификация компонентов по библиотеке индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца при программировании температуры, библиотеки масс-спектров базы данных NIST и

литературным данным. Экспериментально подтверждена возможность метода ПФА-ГХ проводить дифференциацию составов РПФ морфологических органов растений (цветков и стеблей) на примере лаванды узколистной. Полученные результаты при этом согласуются с результатами по анализу некоторых промышленных образцов ЛРС других растений, в составе которых присутствовала значительная примесь стеблей. В РПФ цветков/листьев обнаружены компоненты, позволяющие сделать вывод о принадлежности сырья к виду лаванды узколистной: линалилацетат (1264; 23,45 %), линалоол (1106; 10,8 %), лавандулил ацетат (1296; 5,84 %) и лавандулил изобутират (1436; 1,76 %). Построены диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» летучих соединений ЛРС лаванды узколистной (ПФА-спектры), которые представляют собой уникальные совокупные образы растения.

3.1.6 Хемометрическая обработка результатов

Хемометрическая обработка данных методом главных компонент (РСА) полученных результатов была проведена по индексам удерживания Ван ден Доола и Кратца и относительным содержаниям компонентов. Для корректного представления характерных особенностей компонентных составов различных растительных видов для обработки были выбраны результаты исследования свежих растений: ботанические образцы мелиссы лекарственной, котовника кошачьего, иссопа лекарственного, лаванды узколистной и образец змееголовника молдавского ВИЛАР. Обработку данных и построение графика РСА проводили в программе MetaboAnalyst 6.0 [169]. Исходные данные представляли собой матрицу относительных содержаний компонентов по индексам удерживания Ван ден Доола и Кратца. Для снижения влияния доминирующих по содержанию компонентов на результат применяли логарифмическое преобразование данных с последующим масштабированием по методу Парето [170]. Анализ главных компонент проводили на основе преобразованной матрицы данных с последующей визуализацией образцов в координатах первых двух главных компонент (рисунок 37).

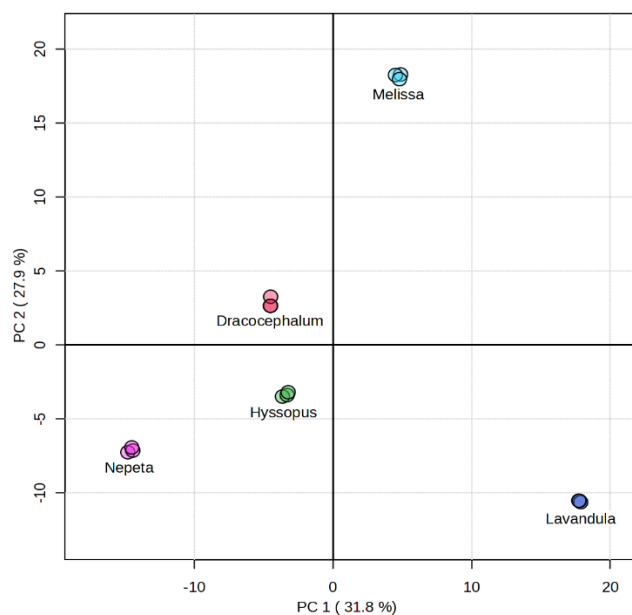


Рисунок 37 – Результаты ПФА-ГХ-ПИД исследования РПФ ботанических образцов мелиссы лекарственной (*Melissa*), котовника кошачьего (*Nepeta*), иссопа лекарственного (*Hyssopus*), лаванды узколистной (*Lavandula*) и змееголовника молдавского (*Dracosephalum*) производства ВИЛАР в координатах первой и второй главных компонент

Анализ главных компонент показал четкое разделение исследуемых видов по составу. Первая и вторая главные компоненты описывают 59,7 % от общей дисперсии данных. По положению образцов на графике можно сделать вывод, что мелисса лекарственная и лаванда узколистная наиболее отличимы по составу (находятся в области положительных значений PC1 и в противоположных значениях PC2). Котовник кошачий, иссоп лекарственный и змееголовник молдавский расположены ближе друг к другу, что говорит об их меньших различиях в составе. Таким образом проведенный анализ методом главных компонент наглядно демонстрирует закономерности различий составов проанализированных образцов, что подтверждает возможность применения метода ПФА-ГХ-ПИД и получаемых ПФА-спектров для видовой идентификации растений, принадлежащих одному семейству Яснотковые.

3.2 Капиллярный электрофоретический анализ экстрактов лекарственных растений

3.2.1 Мелисса лекарственная и котовник кошачий

Определение содержания флавоноидов рутина, лютеолина и цинарозида в спиртовых экстрактах ботанических образцов мелиссы лекарственной и котовника кошачьего проводилось методом КЭ с применением стандартных образцов этих флавоноидов.

Важно отметить, что определение флавоноидов методом КЭ в растительных объектах возможно только при достаточно высоких параметрах эффективности, селективности и чувствительности выбранной методики из-за присутствия большого количества других преобладающих по содержанию компонентов. Установлено, что для анализа флавоноидов предпочтительно использовать боратный электролит с $pH = 9,2 - 10,8$, так как он позволяет достичь более высоких параметров эффективности и селективности, чем при применении карбонатного и фосфатного электролитов [158]. Поведение флавоноидов в боратном буфере авторы связывают с процессами комплексообразования борной кислоты как с фенольными диольными группами, так и с диольными группами фрагментов гликозидов флавоноидов, а также с близкорасположенными карбонильными и гидроксильными группами в молекулах флавоноидов. Образующиеся отрицательно заряженные боратные комплексы обладают собственной эффективной электрофоретической подвижностью (ЭЭП), направленной в противоположную сторону от направления электрофоретического потока. Поэтому собственная ЭЭП в боратном буфере возрастает с уменьшением массы (размера) молекулы флавоноида, а также с увеличением количества гидроксильных групп за счет повышения отрицательного заряда комплекса. Именно поэтому в боратном буфере флавоноиды с углеводными фрагментами (гликозиды) мигрируют в направлении движения электроосмотического потока, как правило, быстрее, чем агликоны, что связано с большим размером частиц гликозидов. Последовательность миграции зон цинарозид→рутин→лютеолин, представленная на электрофореграмме (ЭФГ) модельной смеси подтверждает вышеуказанную закономерность (рисунок 38).

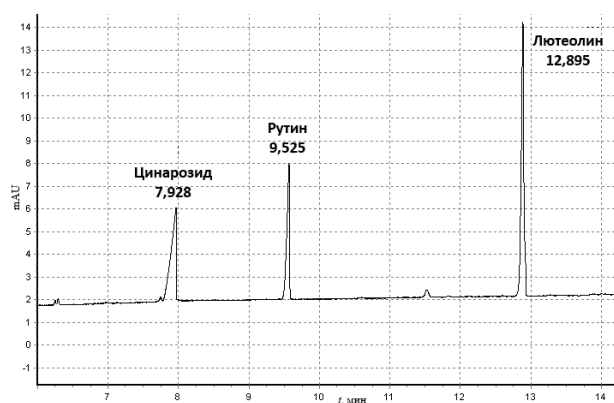


Рисунок 38 – ЭФГ раствора модельной смеси цинарозида, рутина и лютеолина: боратный буфер, pH = 9,2, концентрация 0,05 моль/л

Электрофореграмма (ЭФГ) этанольного экстракта ботанического образца мелиссы лекарственной (сбор 2023 года) представлена на рисунке 39.

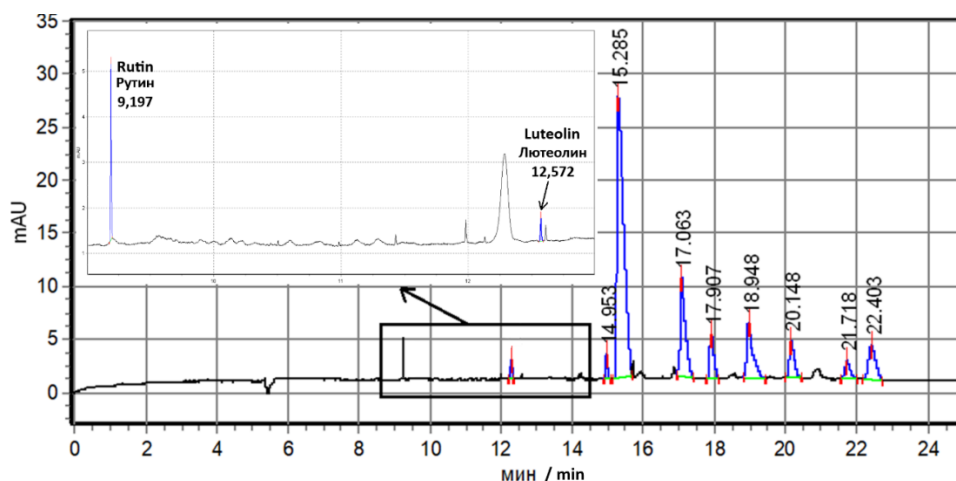


Рисунок 39 – ЭФГ этанольного экстракта ботанического образца мелиссы лекарственной (сбор 2023 года)

На ЭФГ экстракта мелиссы лекарственной пики с временами миграции 9,197 минут и 12,572 минут на начальном участке ЭФГ, соответствуют рутину и лютеолину, соответственно; цинарозид в экстракте не обнаружен. Всего зарегистрировано 14 различных пиков компонентов.

Согласно литературным данным, полученным методом ВЭЖХ [171], рутин и лютеолин действительно относятся к минорным компонентам мелиссы лекарственной, а основными компонентами являются флавоноиды (мирицетин,

кверцетин, кемпферол) и фенольные кислоты (розмариновая, сиреневая, галловая, п-кумаровая, кофейная, хлорогеновая, эллаговая, феруловая), причем доминирующим компонентом является розмариновая кислота (время миграции 15,285 минут).

ЭФГ этанольного экстракта ботанического образца «котовник кошачий» представлена на рисунке 40.

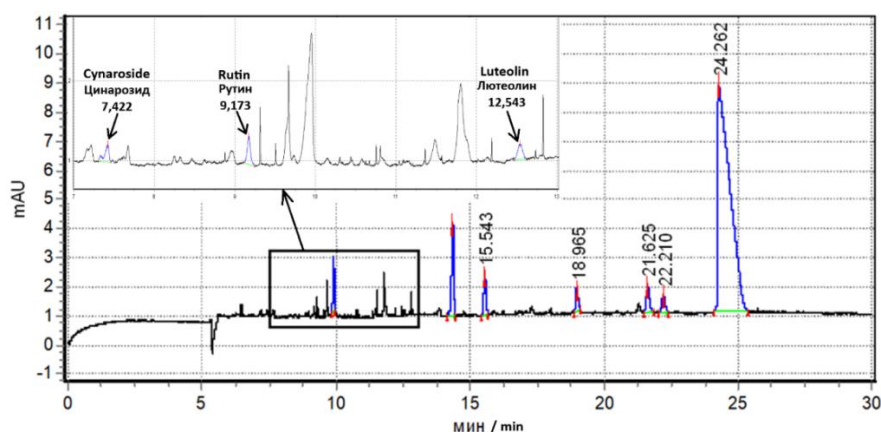


Рисунок 40 – ЭФГ этанольного экстракта ботанического образца котовника кошачьего (сбор 2023 года)

На ЭФГ экстракта котовника кошачьего пики с временами миграции 9,173 минут и 12,543 минут соответствуют рутину и лютеолину, соответственно. Цинарозиду соответствует пик с временем миграции 7,422 минут. Всего зарегистрировано 20 различных пиков компонентов, причем максимальный пик со временем миграции 24,262 минут, согласно литературным данным, полученным методом ВЭЖХ [101], соответствует хлорогеновой кислоте.

Следует указать на то, что при выбранных условиях электрофоретического эксперимента пики исследуемых флавоноидов хорошо разделены и регистрируются до выхода пиков доминантных компонентов (фенольных кислот, флавоновых агликонов), которые не оказывают мешающего влияния на определение этих флавоноидов даже при низких содержаниях.

Обобщенные данные по содержанию флавоноидов в экстрактах и высушенных образцах Melissa лекарственной и котовника кошачьего, полученные методом КЭ представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Результаты определения флавоноидов в этанольных экстрактах ботанических образцов ЛРС Melissa лекарственной и котовника кошачьего и их содержание в пересчете на 1 г сухого сырья ($P = 0,95$)

Флавоноид	Мелисса лекарственная (Бот. сад, г. Самара, сбор 2022 года)		Котовник кошачий (Бот. сад, г. Самара, сбор 2022 года)	
	экстракт, мг/л	сухое сырье, мг/г	экстракт, мг/л	сухое сырье, мг/г
Рутин	7,01	0,35	4,35	0,22
Лютеолин	0,22	0,01	0,54	0,03
Цинарозид	—	—	0,51	0,03

Определенное методом КЭ содержание рутина и лютеолина в высушенной надземной части Melissa лекарственной укладывается в диапазоны концентраций, представленных в литературных источниках (на 1 г сухого сырья) [172-175]: рутин (0,008 – 2,340 мг/г), лютеолин (0,008-0,026 мг/г). Информация о присутствии в Melissa цинарозида противоречива и только в работе [172] указано, что содержание этого флавоноида в надземной части растения может достигать 0,408 мг/г, а в высушенной листве он не был обнаружен. Сведений о содержании целевых флавоноидов в котовнике кошачьем в литературе крайне мало, однако, часть из них обнаружена в эфирном масле котовника кошачьего (на 1 г эфирного масла) [100]: рутин – 0,331 мг/г, цинарозид – 0,434 мг/г.

3.2.2 Лаванда узколистная

Определение флавоноидов рутина, кверцетина и катехина, а также феруловой и коричной кислот проводилось для этанольного экстракта ботанического образца ЛРС лаванды узколистной в идентичных условиях эксперимента. ЭФГ этого образца приведена на рисунке 41.

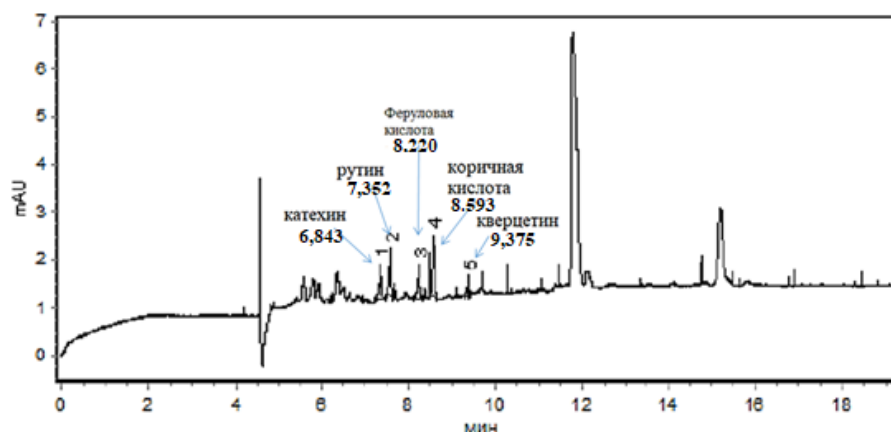


Рисунок 41 – ЭФГ этанольного экстракта ботанического образца лаванды узколистной (сбор 2024 года)

Аналогично предыдущим образцам, все исследуемые компоненты определены на начальном участке электрофоретического профиля в виде небольших пиков. Результаты количественного определения флавоноидов и фенольных кислот по градуировочным графикам стандартных образцов приведены в таблице 12.

Таблица 12 – Результаты определения флавоноидов и фенольных кислот в этанольном экстракте ботанического образца ЛРС лаванды узколистной и их содержание в пересчете на 1 г сухого сырья (Р = 0,95)

Вещество	Лаванда узколистная (Бот. сад, г. Самара, сбор 2024 года)	
	экстракт, мг/л	сухое сырье, мг/г
Рутин	2,70	0,14
Кверцетин	3,12	0,16
(+)-Катехин	25,62	1,28
Феруловая к-та	2,31	0,12
Коричная к-та	63,94	3,20

Сведения по определению количественного содержания фенольных кислот в экстрактах лаванды узколистной методом ВЭЖХ разнятся, но, в целом, сопоставимы с полученными результатами. В работе [176] в метанольных экстрактах лаванды узколистной больше всего было обнаружено эллаговой (4,99-

5,14 мг/г сух. сырья), галловой (5,21-7,68 мг/г сух. сырья) кислот; содержание коричной кислоты составило 0,99-3,54 мг/г сух. сырья. В этанольном экстракте лаванды узколистной авторы [177] выделили кофейную (15,2 мкг/г сух. сырья), розмариновую (10,1 мкг/г сух. сырья) кислоты как преобладающие по содержанию, тогда как коричная (0,98 мкг/г сух. сырья), феруловая (0,18 мкг/г сух. сырья) и галловая (0,14 мкг/г сух. сырья) кислоты присутствуют в минимальных количествах. Розмариновая (2,52-10,82 мг/г экстракта), феруловая (2,94-8,76 мг/г экстракта), были обнаружены в экстрактах и отварах различных сортов лаванды узколистной в работе [178]. В экстрактах растительного каллюса и проростков лаванды узколистной [179] содержание фенольных кислот было незначительным и составило для хлорогеновой (1-1603 мкг/г), коричной (1-5 мкг/г).

Сведений о содержании флавоноидов в экстрактах лаванды узколистной крайне мало и лишь в работе [180] указано количество рутина (48,89-295,57 мкг/мл), кверцетина (2,47-13,26 мкг/мл) и (+)-катехина (4,18-10,76 мкг/мл) в экстрактах лаванды узколистной.

Полученные результаты подтверждают возможность применения метода КЭ с УФ-детектированием ($\lambda = 355$ нм) при использовании боратного буферного электролита (pH=9,2) для селективного разделения растительных экстрактов, содержащих флавоноиды и фенольные кислоты. Предложенный способ позволил провести определение флавоноидов и фенольных кислот многокомпонентных спиртовых экстрактов ЛРС Melissa лекарственной, котовника кошачьего и лаванды узколистной с использованием стандартных образцов. В целом, метод КЭ можно предложить в качестве альтернативы дорогому ВЭЖХ для упрощенного анализа экстрактов ЛРС на анализ конкретных нелетучих биологически активных органических соединений.

Таким образом, в диссертационной работе впервые изучены закономерности газовой экстракции органических соединений из осушенных ЛРС семейства Яснотковые (*Lamiaceae*): Melissa лекарственной, котовника кошачьего, иссопа лекарственного, змееголовника молдавского и лаванды узколистной. Установлены

подходящие условия (температура, время экстракции) для получения представительных РПФ этих растений содержащих наиболее близкий к сухому сырью состав действительных летучих компонентов. При помощи предложенного подхода с применением методов ПФА-ГХ-ПВД и ПФА-ГХ-МС определен состав РПФ ботанических, культивированных и промышленных образцов ЛРС мелиссы лекарственной, котовника кошачьего, иссопа лекарственного, змееголовника молдавского и лаванды узколистной. Паровые фазы изученных ЛРС состоят из терпенов (α -, β -пинены, лимонен, камфен, мирцен, α -фелландрен и др.), терпеноидов (камфора, эвкалиптол и др.), простых и сложных эфиров (метоксиэтен, этилацетат, 1,1-диэтоксиэтан и др.), спиртов (гексанол, 2-метил-3-бутен-2-ол и др.), альдегидов (2-метилбутаналь, 3-метилбутаналь, пропаналь, гексаналь и др.) и содержат органические соединения других классов.

Установлено, что предложенный подход с применением метода ПФА-ГХ позволяет надежно определять состав летучих компонентов ЛРС в условиях их высокой вариативности в зависимости от региона произрастания, погодных условий, хемотипических особенностей, используемых растительных органов, условий обработки, сушки и срока хранения. Выявлены специфические летучие соединения для ЛРС мелиссы лекарственной (гераниаль – 1263, гераниол – 1254, цитронеллаль – 1161), иссопа лекарственного (β -пинен – 981, пинокамфон – 1173, изопинокамфон – 1187), змееголовника молдавского (геранилацетат – 1393, нерилацетат – 1374, гераниол – 1254, гераниаль – 1263) и лаванды узколистной (линалилацетат – 1264, линалоол – 1106, лавандулил ацетат – 1296, лавандулил изобутират – 1436), содержание которых в ЛРС в определенных соотношениях позволяет отнести проанализированное сырье к конкретному растительному виду. Важно отметить, что такой способ идентификации можно применить только для образцов сырья, в составе которых сохраняются характерные ключевые растительные компоненты. Показана возможность анализа ЛРС методом ПФА-ГХ по относительному содержанию зарегистрированных легко-, средне- и труднолетучих соединений. Все полученные газохроматографические профили ЛРС были представлены в виде диаграмм «относительная площадь пика-индекс

удерживания» или ПФА-спектров, представляющих собой характерный «отпечаток пальца» каждого из образцов, что позволяет компактно и наглядно представить всю информацию о составе каждого образца. Полученные результаты подтверждают возможность применения метода ПФА-ГХ-ПВД как экспрессного метода для осуществления аналитического контроля растительного сырья, который в совокупности с методом ПФА-ГХ-МС позволит получить полные сведения о составе летучих компонентов растения и сделать вывод о видовой принадлежности.

Кроме того, предложен способ определения методом КЭ нелетучих биологически активных соединений содержащихся в этанольных экстрактах эфирномасличных растений. Этим методом подтверждена возможность эффективного разделения и определения флавоноидов (рутина, лютеолина и цинарозида) в этанольных экстрактах Melissa лекарственной и котовника кошачьего, а также содержание флавоноидов (рутина, (+)-катехина и кверцетина) и фенольных кислот (коричной и феруловой) в этанольном экстракте лаванды узколистной.

Применение метода ПФА в комбинации с ГХ-ПВД и ГХ-МС для установления подлинности ЛРС обусловлено его экспрессностью и экономичностью, поскольку отсутствует необходимость получения эфирных масел или экстрактов растения. При этом, даже применение одного метода ПФА-ГХ-ПВД позволяет получать сведения о компонентном составе летучих соединений в РПФ растений и представлять их в виде характерного «отпечатка пальца» (ПФА-спектра), что еще больше повышает экспрессность определения ЛРС. В свою очередь, применение метода КЭ позволяет определить нелетучие компоненты, содержащиеся в ЛРС (флавоноиды и фенольные кислоты), и дополнить метод ПФА-ГХ анализа, при необходимости.

ВЫВОДЫ

1. Предложен способ изучения закономерностей газовой экстракции и выявления подходящих условий получения равновесных паровых фаз из осушенного растительного сырья семейства Яснотковые (*Lamiaceae*), обеспечивающий получение воспроизводимых результатов анализа ЛРС и формирования их характерных газохроматографических профилей. Для проанализированных видов эти условия составили по времени экстракции 20-30 минут, по температуре: мелисса лекарственная – 80-120 °С, котовник кошачий – 80-120 °С, иссоп лекарственный – 80 °С, змееголовник молдавский – 100-120 °С, лаванда узколистная – 80-100 °С.

2. Предложенным способом с применением метода парофазного газохроматографического анализа с пламенно-ионизационным и масс-спектрометрическим детектированием определен состав и проведена идентификация компонентов равновесных паровых фаз ботанических, культивированных и промышленных образцов эфирномасличных растений семейства Яснотковые. Показано, что сочетание результатов идентификации компонентов при помощи масс-спектров базы данных NIST и библиотеки индексов удерживания Ван ден Доола и Кратца при программировании температуры, а также литературных данных по анализу эфирных масел и экстрактов проанализированных растений позволяет идентифицировать от 40 до 85 % всех летучих соединений.

3. Установлено, что полученные при помощи метода ПФА-ГХ-ПВД газохроматографические профили и ПФА-спектры ЛРС содержат хорошо разделенные пики легколетучих ($I_i^T < 900$ ед.), среднелетучих ($I_i^T 900 - 1200$ ед.) и труднолетучих компонентов ($I_i^T > 1200$ ед.). Подтверждена возможность предложенного подхода ПФА-ГХ выявлять совокупности характерных летучих соединений ЛРС семейства Яснотковые: мелиссы лекарственной (гераниаль – 1263, гераниол – 1254, цитронеллаль – 1161), котовника кошачьего (цитронеллол – 1241, гераниол – 1254 и гераниаль – 1263), иссопа лекарственного (β -пинен – 981,

пинокамфон – 1173, изопинокамфон – 1187), змееголовника молдавского (геранилацетат – 1393, нерилацетат – 1374, гераниол – 1254, гераниаль – 1263) и лаванды узколистной (линалилацетат – 1264, линалоол – 1106, лавандулил ацетат – 1296, лавандулил изобутират – 1436), содержание которых в ЛРС позволяет отнести проанализированное сырье к конкретному растительному виду.

4. Экспериментально доказана способность предложенного подхода ПФА-ГХ обеспечивать надежное выявление особенностей состава летучих компонентов ЛРС в условиях их высокой изменчивости под влиянием множества факторов (регион произрастания, погодные условия, хемотипические особенности, соотношения морфологических органов, условий обработки, сушки, срока хранения). Построенные диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» (ПФА-спектры) являются специфичными и позволяют наглядно представить общий образ многокомпонентного газового экстракта ЛРС и оперативно установить его подлинность и видовую принадлежность.

5. Подтверждена эффективность метода КЭ для селективного разделения многокомпонентных этанольных экстрактов растений и определения флавоноидов (рутина, лютеолина и цинарозида) в этанольных экстрактах мелиссы лекарственной и котовника кошачьего, а также содержания флавоноидов (рутина, (+)-катехина и кверцетина) и фенольных кислот (коричной и феруловой) в этанольном экстракте лаванды узколистной.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Витенберг А.Г., Иоффе Б.В. Газовая экстракция в хроматографическом анализе. Л.: Химия. 1982. 279 с.
2. Хахенберг Х., Шмидт А. Газохроматографический анализ равновесной паровой фазы. М.: Мир. 1979. 160 с.
3. Столяров Б.В., Савинов И.М., Витенберг А.Г. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии: учеб. пособие для хим. спец. вузов / Под ред. Б.В. Иоффе. 2-е изд., перераб. Л.: Химия. 1978. 287 с.
4. Столяров Б.В., Савинов И.М., Витенберг А.Г., Карцова Л.А., Зенкевич И.Г., Калмановский В.И., Каламбет Ю.А. Практическая газовая и жидкостная хроматография: учеб. пособие для студентов хим., биол., экол. и мед. спец. вузов. СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та. 2002. 620 с.
5. Kolb B., Ettre L.S. Static Headspace-Gas Chromatography: Theory and Practice. New York: Wiley-VCH. 1997. 341 p.
6. Колб Б. Газовая хроматография с примерами и иллюстрациями / Пер. с нем. Л.А. Онучак, С.Ю. Кудряшов. 2-е изд., перераб. и доп. Самара: Самарский университет. 2007. 248 с.
7. Snow N.H., Slack G.C. Headspace analysis in modern gas chromatography. // Trends Anal. Chem. 2002. V. 21. P. 608–617.
8. Sithersingh M.J., Snow N.H. Headspace gas chromatography. // Handbooks in Separation Science. Gas Chromatography. 2nd ed. Elsevier. 2021. P. 251–265.
9. Родинков О.В., Писарев А.Ю., Москвин Л.Н. Парофазный газохроматографический анализ водных растворов с селективным поглощением газа-экстрагента. // Сорбц. и хроматогр. проц. 2015. Т. 15. № 1. С. 116–127.
10. Gonzalo A.L., Uría J.E.S., García E.S. et al. Critical comparison of automated purge and trap and solid-phase microextraction for routine determination of volatile organic compounds in drinking waters by GC-MS. // Talanta. 2008. V. 74. P. 1455–1462.

11. Ueta I., Razaka N.A., Mizuguchi A. et al. Needle-type extraction device for the purge and trap analysis of 23 volatile organic compounds in tap water. // J. Chromatogr. A. 2013. V. 1317. P. 211–216.
12. Brown M.A., Miller S., Emmert G.L. Online purge and trap gas chromatography for monitoring of trihalomethanes in drinking water distribution systems. // Anal. Chim. Acta. 2007. V. 592. P. 154–161.
13. Auer N.R., Manzke B.U., Schulz-Bull D.E. Development of a purge and trap continuous flow system for the stable carbon isotope analysis of volatile halogenated organic compounds in water. // J. Chromatogr. A. 2006. V. 1131. P. 24–36.
14. Kfoury M., Landy D., Fourmentin S. Contribution of headspace to the analysis of cyclodextrin inclusion complexes. // J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. 2019. V. 93. P. 19–32.
15. Porto-Figueira P., Pereira J.A.M., Câmara J.S. Exploring the potential of needle trap microextraction combined with chromatographic and statistical data to discriminate different types of cancer based on urinary volatome biosignature. // Anal. Chim. Acta. 2018. V. 1023. P. 53–63.
16. Скоморощенко В.И., Пенкова О.В., Кистенев Ю.В. Выявление наиболее специфичных летучих метаболитов методом газовой хроматографии в пробах выдыхаемого воздуха больных раком легких и здоровых добровольцев. // Вестн. Томск. гос. ун-та. Химия. 2017. № 7. С. 45–54.
17. Золотов Ю.А. О некоторых тенденциях развития аналитической химии. // Завод. лаб. Диагн. материалов. 2012. Т. 78. № 9. С. 5–7.
18. Romano S.J., Renner J.A., Leitner P.M. Gas chromatographic determination of residual ethylene oxide by headspace analysis. // Anal. Chem. 1973. V. 45. P. 2327–2330.
19. Витенберг А.Г. Статический паровфазный газохроматографический анализ. Физико-химические основы и области применения. // Рос. хим. журн. 2003. Т. XLVII. № 1. С. 7–22.
20. Mazza G., Pietrzak E.M. Headspace volatiles and sensory characteristics of earthy, musty flavoured potatoes. // Food Chem. 1990. V. 36. P. 97–112.

21. Miranda-Lopez R., Libbey L.M., Watson B.T., McDaniel M.R. Odor analysis of Pinot Noir wines from grapes of different maturities by a gas chromatography-olfactometry technique (Osme). // J. Food Sci. 1992. V. 57. P. 985–993.
22. Buchbauer G., Jirovetz L., Wasicky M. et al. Headspace and essential oil analysis of apple flowers. // J. Agric. Food Chem. 1993. V. 41. P. 116–118.
23. Penalver R., Pérez-Alvarez M.D., Campillo N., Arroyo-Manzanares N., Viñas P. Static headspace-gas chromatography with mass spectrometry for the assessment of the bioaccumulation of volatile organic compounds associated with microplastics in animal tissues. // Anal. Chim. Acta. 2025. V. 1333. P. 343412.
24. Chudinov I.K., Krinitsina A.A., Petukhova D.A. et al. Proteogenomic investigation of plant constituents in herbal beverages. // npj Sci. Food. 2026. V. 10. № 99.
25. Zhu X., Jia Z., Zhou Y., Hu F., Luo J., Hu C., Yu L., Chen Z. Headspace-gas chromatography-mass spectrometry combined with network pharmacology to investigate the effects of different concoctions on the quality of *Curcuma longa* Radix. // Chinese J. Anal. Chem. 2026. V. 54. № 4. P. 100665.
26. Yassen M.S., Ayoub I.M., El-Ahmady S.H., Singab A.N.B. Comparative analysis of flower volatiles from four *Jasminum* species growing in Egypt using multivariate analysis. // Sci. Rep. 2026. V. 16. P. 8947.
27. Najafian S., Rowshan V., Fathi S. Comparison of chemical constituents of essential oil from aerial parts of *Mentha longifolia* and *Salvia multicaulis* obtained by hydrodistillation and headspace analysis. // J. Essent. Oil Bear. Plants. 2020. V. 23. № 4. P. 719–727.
28. Nagy P.T., Tóth F.A., Czeglédi L., Kiss A.P. Optimizing thermal pretreatment for volatile bioactive profiling in medicinal plants using HS-GC-MS analysis. // Appl. Sci. 2026. V. 16. P. 1031.
29. Hundertmark M., Germerott T., Wunder C. HS-FET-GC/MS-method development and validation for analysis of 45 terpenes—creating a complementary tool for comprehensive profiling of cannabis flowers in forensics. // Drug Test. Anal. 2026. V. 18. P. 118–138.

30. Markelov M., Guzowski J.P. Matrix independent headspace gas chromatographic analysis. The full evaporation technique. // *Anal. Chim. Acta*. 1993. V. 276. P. 235–245.
31. Li J., Kang Z., Li Z., Cui G. Headspace gas chromatography-ion mobility spectrometry for rapid and accurate authentication of Panax notoginseng powder: Identifying adulteration with wheat flour, corn starch, and yellow dextrin. // *Microchemical Journal*. 2025. V. 217. P. 115028.
32. Song X.-H., Han L.-S., Yu L., Lai Y.-B., Wang E.-P., Liu S.-Y. Comparative analysis of volatile components of Panax ginseng flower by four extraction methods. // *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. 2024. V. 52. № 2. P. 100366.
33. Zhang Z., Pawliszyn J. Headspace solid-phase microextraction. // *Analytical Chemistry*. 1993. V. 65. № 14. P. 1843–1852.
34. Fuente-Ballesteros A., Ares A.M., Bernal J., Valverde S. Miniaturized analytical method to evaluate the profile of biogenic volatile organic compounds from Spanish tree species by gas chromatography coupled to mass spectrometry and chemometric tools. // *Journal of Chromatography Open*. 2025. V. 7. P. 100208.
35. Kaikiti K., Omirou M., Ioannides I.M., Agapiou A. Mapping soil VOCs using three green sample extraction techniques and GC–MS. // *Microchemical Journal*. 2024. V. 207. P. 111851.
36. Zhang Z., Qian J., Ying Z., Tang Z., Li Z., Li W. HS-SPME-GC-MS combined with machine learning methods for screening volatile quality indicators in *Hypericum perforatum* L. // *New Journal of Chemistry*. 2025. V. 49. № 22. P. 9354–9367.
37. Franchina F.A., Purcaro G. Chapter Six - Sample preparation strategies for comprehensive volatile fingerprinting. // *Comprehensive Analytical Chemistry*. 2022. V. 96. P. 155–184.
38. Zhou W.-J., Jiang X.-M., Wang S. Comparison of determination of hexanal in edible oils by static headspace and headspace-SPME method. // *Science and Technology of Food Industry*. 2016. V. 19. P. 311–313.
39. Sghaier L., Vial J., Sassiati P., Thiebaut D., Watiez M., Breton S., Rutledge D.N., Cordella C.B.Y. An overview of recent developments in volatile compounds analysis

- from edible oils: Technique-oriented perspectives. // *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2016. V. 118. P. 1853–1879.
40. Sun M., Cui Y., Li J., Khan K.S., Lyu J., Xiao X., Yu J. HS-SPME/GC-MS and E-nose-based characterization of volatile compounds in purple garlic across eight Chinese regions. // *Food Chemistry: X*. 2025. V. 30. P. 102896.
 41. Zouaoui N., Chenchouni H., Bouguerra A., Massouras T., Barkat M. Characterization of volatile organic compounds from six aromatic and medicinal plant species growing wild in North African drylands. // *NFS Journal*. 2020. V. 18. P. 19–28.
 42. Guo F.-Q., Huang L.-F., Zhou S.-Y., Zhang T.-M., Liang Y. Comparison of the volatile compounds of *Atractylodes* medicinal plants by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. // *Analytica Chimica Acta*. 2006. V. 570. № 1. P. 73–78.
 43. Wu H., Yang B., Zhang R., Don Z., Xie H. Optimization of harvest time for medicinal use of *Acorus tatarinowii* Schott: A comprehensive analytical approach using HS-SPME-GC-MS, network pharmacology, and molecular simulation techniques. // *Industrial Crops and Products*. 2025. V. 233. P. 121424.
 44. Zatout R., Benslama O., Zatout C., Kaouache S., Garzoli S. Volatile profile of *Calicotome spinosa* (L.) Link. revealed by SPME-GC-MS: Phytotoxic and insecticidal activities supported by in silico analysis. // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2026. V. 72. P. 103931.
 45. Yang T., Tang B., Tang J., Xu C., Hong Y., Wu F., Lin X. Analysis of volatile components in *Pheretima* and its extracts using HS-GC-IMS and HS-SPME-GC-MS combined with ROAV. // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2026. V. 150. P. 108835.
 46. Qu W.-T., Song X.-H., Li G., Hou J.-F., Han Y.-Y., Ye P., Zhang H.-E., Chen C.-B., Chen Y., Wang E.-P. Profiling and discovery of volatile marker compounds for ginseng berries with different growth years by HS-SPME-GC-MS. // *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. 2023. V. 51. № 1. P. 100208.

47. Crespo Cajigas J., Gokool V.A., Holness H.K., Furton K.G., DeGreeff L.E. Method development for an untargeted HS-SPME-GC-MS analysis of terpenes and cannabinoids for the geographical sourcing of marijuana. // *Talanta Open*. 2024. V. 9. P. 100300.
48. Kumar A., Varshney V.K., Rawat M.S.M., Martinez J.R., Stashenko E.E. HS-SPME/GC/GC-MS analysis of volatile constituents of *Morina longifolia* Wall. // *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2018. V. 21. № 1. P. 115-127.
49. Sheng X., Huang M., Li T., Li X., Cen S., Li Q., Huang Q., Tang W. Characterization of aroma compounds in *Rosa roxburghii* Tratt using solvent-assisted flavor evaporation headspace-solid phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry. // *Food Chemistry: X*. 2023. V. 18. P. 100632.
50. Pachura N., Zimmer A., Grzywna K., Figiel A., Szumny A., Łyczko J. Chemical investigation on *Salvia officinalis* L. affected by multiple drying techniques – The comprehensive analytical approach (HS-SPME, GC-MS, LC-MS/MS, GC-O and NMR). // *Food Chemistry*. 2022. V. 397. P. 133802.
51. Zhao L., Huang X., Xu Y., Xi L., Song W., Xing X., Liu M., Li M., Hou Y. Network pharmacological prediction of chemical constituents and endophyte metabolites of medicinal plant Shengli grass. // *Scientific Reports*. 2025. V. 15. P. 36919.
52. Yue C., Cao H., Zhang S., Hao Z., Wu Z., Luo L., Zeng L. Aroma characteristics of Wuyi rock tea prepared from 16 different tea plant varieties. // *Food Chemistry: X*. 2023. V. 17. P. 100586.
53. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации. М. 2023. URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea15> (дата обращения: 21.04.2026).
54. Карцова Л.А. Проблемы аналитической химии. Капиллярный электрофорез / Рос. акад. наук, Отд-ние химии и наук о материалах, Науч. совет по аналит. химии; под ред. Л.А. Карцовой. М.: Наука. 2014. 442 с.
55. Marina M.L., Torre M. Capillary electrophoresis. // *Talanta*. 1994. V. 41. № 9. P. 1411–1433.

56. Карцова Л.А., Макеева Д.В., Бессонова Е.А. Современное состояние метода капиллярного электрофореза. // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 12. С. 1059–1079.
57. Tůma P. Advances in capillary electrophoresis for plant analysis. // Talanta. 2025. V. 293. P. 128171.
58. Tůma P., Opekar F., Dlouhý P. Capillary and microchip electrophoresis with contactless conductivity detection for analysis of foodstuffs and beverages. // Food Chemistry. 2022. V. 375. P. 131858.
59. Štěpánová S., Kašička V. Applications of capillary electromigration methods for separation and analysis of proteins (2017–mid 2021) – A review. // Analytica Chimica Acta. 2022. V. 1209. P. 339447.
60. Tůma P. Progress in on-line, at-line, and in-line coupling of sample treatment with capillary and microchip electrophoresis over the past 10 years: A review. // Analytica Chimica Acta. 2023. V. 1261. P. 341249.
61. Tůma P. Advances in the design and application of contactless conductivity detectors for separation, flow-through, microfluidic and sensing techniques: A review. // Analytica Chimica Acta. 2025. V. 1337. P. 343325.
62. Simas Porto B.L., Valdés A., Cifuentes A., Alvarez-Rivera G. Capillary electrophoresis in phytochemical analysis: Advances and applications in the period 2018–2021. // Trends in Analytical Chemistry. 2023. V. 161. P. 116974.
63. Hong Y., Wang L., Su J., Wang R., Zhang J., Liu Y., Guo H., Li M., Lu Q., Chang Y., Zhang J., Chen X. A novel capacitively coupled contactless conductivity detection (C4D) microfluidic chip integrated 3D microelectrodes for on-site determination of soil nutrients. // Computers and Electronics in Agriculture. 2024. V. 219. P. 108829.
64. Tan M.L., Zhang M., Li F., Maya F., Breadmore M.C. A three-dimensional printed electromembrane extraction device for capillary electrophoresis. // Journal of Chromatography A. 2019. V. 1595. P. 215-220.

65. Truică (Badea) G., Teodor E.D., Radu G.L. Organic acids assessments in medicinal plants by capillary electrophoresis. // *Revue Roumaine de Chimie*. 2013. V. 58. № 9–10. P. 809–814.
66. Lima N.M., Silveira R.S., Ramos R.R., Santos V.N.C., Nascimento M.P., Andrade T., Carli A.P., Oliveira M., Almeida M.V. Bioactivity and dereplication of phenolic compounds in medicinal plants. // *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. 2019. V. 11. № 3. P. 105–110.
67. Li W.L., Li M.J., Pan Y.L., Huang B.K., Chu Q.C., Ye J.N. Study on electrochemical profiles of Valeriana medicinal plants by capillary electrophoresis. // *Journal of Analytical Chemistry*. 2014. V. 69. № 2. P. 179–186.
68. Ong E.S., binte Apandi S.N. Determination of berberine and strychnine in medicinal plants and herbal preparations by pressurized liquid extraction with capillary zone electrophoresis. // *Electrophoresis*. 2001. V. 22. № 13. P. 2723–2729.
69. Zha X.-Q., Luo J.-P., Wei P. Identification and classification of *Dendrobium candidum* species by fingerprint technology with capillary electrophoresis. // *South African Journal of Botany*. 2009. V. 75. P. 276–282.
70. Yu Y., Ding P., Chen D. Determination of quinolizidine alkaloids in *Sophora* medicinal plants by capillary electrophoresis. // *Analytica Chimica Acta*. 2004. V. 523. P. 15–20.
71. Cheng J., Mitchelson K.R. Improved separation of six harmane alkaloids by high-performance capillary electrophoresis. // *Journal of Chromatography A*. 1997. V. 761. P. 297–305.
72. Nagy C., Pesti A., Andrási M., Vasas G., Gáspár A. Determination of artemisinin and its analogs in *Artemisia annua* extracts by capillary electrophoresis–mass spectrometry. // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2021. V. 202. P. 114131.
73. Tallini L.R., Pedrazza G.P.R., Bordignon S.A. de L., Costa A.C.O., Steppe M., Fuentefria A., Zuanazzi J.A.S. Analysis of flavonoids in *Rubus erythrocladus* and *Morus nigra* leaves extracts by liquid chromatography and capillary electrophoresis. // *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2015. V. 25. № 3. P. 219–227.

74. Han L., Liu X., Yang N., Li J., Cai B., Cheng S. Simultaneous chromatographic fingerprinting and quantitative analysis of flavonoids in Pollen Typhae by high-performance capillary electrophoresis. // *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2012. V. 2. № 6. P. 602–609.
75. Gu C., Liu B., Zhou K. Determination of nine organophosphorus pesticide residues in corn by capillary electrophoresis with solid phase extraction. // *International Journal of Electrochemical Science*. 2024. V. 19. № 11. P. 100845.
76. Timmermans P.B.M.W.M. Stereochemistry and biological activity of drugs. // *Trends in Pharmacological Sciences*. 1983. V. 4. P. 285–286.
77. Nguyen N.-V.T., Nguyen K.-N.H., Nguyen K.T., Kim K.H., Aboul-Enein H.Y. The impact of chirality on the analysis of alkaloids in plant. // *Pharmacia*. 2021. V. 68. № 4. P. 643–656.
78. Gampe N., Ladocsi L., Fejös I., Boldizsár I., Darcsi A., Béni S. Enantioseparation and quantitative determination of two homologous beta amino acids found in Fabaceae plants. // *Journal of Chromatography A*. 2022. V. 1675. P. 463089.
79. Gotti R. Capillary electrophoresis of phytochemical substances in herbal drugs and medicinal plants. // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011. V. 55. № 4. P. 775–801.
80. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. Самара: Офорт. 2004. 1180 с.
81. Флора СССР. М.: Изд-во АН СССР. 1954. Т. 20-21. 703 с.
82. Горбунова Т.А. Атлас лекарственных растений. М.: Аргументы и факты. 1995. 352 с.
83. Пастушенков Л.В., Пастушенков А.Л., Пастушенков В.Л. Лекарственные растения: использование в народной медицине и быту. Л.: Лениздат. 1990. 284 с.
84. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения Российской Федерации. М. 2018. URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 12.05.2026).
85. European Pharmacopoeia. 11th ed. Strasbourg: Council of Europe. 2022. 4975 p.

86. British Herbal Pharmacopoeia. 1996 ed. Bournemouth: British Herbal Medicine Association. 1996. 212 p.
87. British Herbal Compendium. Vol. 2 / Ed. by P.R. Bradley; BHMA Scientific Committee. Bournemouth: BHMA Publishing. 2006. 409 p. [Электронный ресурс]. URL: <https://bhma.info/product/british-herbal-compendium-volume-2/> (дата обращения: 13.05.2026).
88. Deutsches Arzneibuch 2024 : Amtliche Ausgabe (DAB 2024). Stuttgart : Deutscher Apotheker Verlag. 2024. 1500 p.
89. American Herbal Pharmacopoeia: Botanical Pharmacognosy: Microscopic Characterization of Botanical Medicines / Ed. by R. Upton. Boca Raton, FL: American Herbal Pharmacopoeia; CRC Press. 2011. 773 p.
90. Miraj S., Rafieian-Kopaei M., Kiani S. *Melissa officinalis* L: A review study with an antioxidant prospective. // J. Evid. Based Complementary Altern. Med. 2017. V. 22. № 3. P. 385–394.
91. Ergün Z., Ziya Motalebipour E., Kafkas N.E., Guney M. Comparison of volatile compounds of some medicinal plants from Lamiaceae family by HS-SPME method. // Int. J. Mol. Sci. 2026. V. 27. № 10. P. 4601.
92. Couladis M., Koutsaviti A. Chemical composition of the essential oils of *Salvia officinalis*, *S. fruticosa*, *Melissa officinalis*, and their infusions. // Ratar. Povrt. 2017. V. 54. № 1. P. 36–41.
93. Mańkowska D., Dems-Rudnicka K. Antioxidant activity and phenolic compounds in medicinal plants: A comparison of organic and conventional *Mentha piperita*, *Melissa officinalis*, *Salvia officinalis*, and *Urtica dioica*. // Molecules. 2025. V. 30. № 24. P. 4812.
94. Petkova N.T., Zorovski P., Ivanov I., Dincheva I., Bileva T. Bioactive compounds and antioxidant activity in lemon balm (*Melissa officinalis* L.) grown under different growing conditions. // Sci. 2026. V. 8. № 4. P. 77.
95. Shanmugam E., Loos H.M. Where has all the aroma gone? Identification of aroma compounds in fresh and dried leaves of *Melissa officinalis*. // J. Food Bioact. 2022. V. 20. P. 56–60.

96. Abdel-Naime W.A., Fahim J.R., Fouad M.A., Kamel M.S. Antibacterial, antifungal, and GC-MS studies of *Melissa officinalis*. // S. Afr. J. Bot. 2019. V. 124. P. 228–234.
97. Ieri F., Cecchi L., Vignolini P., Belcaro M.F., Romani A. HPLC/DAD, GC/MS and GC/GC/TOF analysis of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) sample as standardized raw material for food and nutraceutical uses. // Adv. Hortic. Sci. 2017. V. 31. № 2. P. 141–147.
98. Küçük S., Tüfekçi A., Gül F., Demirtaş İ. Determination of phytochemical contents of some medicinal aromatic plants (*Echinacea pallida*, *Melissa officinalis*, *Hypericum perforatum* and *Sideritis syriaca*) belonging to Antalya region. // Adv. Hortic. Sci. 2018. V. 32. № 1. P. 29–32.
99. Acosta G., Arce S., Martínez L.D., Llabot J., Gomez M.R. Monitoring of phenolic compounds for the quality control of *Melissa officinalis* products by capillary electrophoresis. // Phytochem. Anal. 2012. V. 23. № 2. P. 177–183.
100. Кащенко Н.И., Оленников Д.Н. Химический профиль и биологическая активность флавоноидов и фенилпропаноидов *Nepeta cataria* L. (Lamiaceae), интродуцированного в Восточной Сибири. // Химия растит. сырья. 2016. № 2. С. 25–32.
101. Палий А.Е., Палий И.Н., Марко Н.В., Работягов В.Д. Биологически активные вещества *Nepeta cataria* L. // Бюллетень ГНБС. 2016. № 118. С. 37–44.
102. Baranauskienė R., Bendžiuvienė V., Ragažinskienė O., Venskutonis P.R. Essential oil composition of five *Nepeta* species cultivated in Lithuania and evaluation of their bioactivities, toxicity and antioxidant potential of hydrodistillation residues. // Food Chem. Toxicol. 2019. V. 129. P. 269–280.
103. Ярош А.М., Батура И.А., Сеницын А.В. Влияние эфирного масла *Nepeta cataria* L. двух разных хемотипов на психоэмоциональное состояние, умственную работоспособность и функцию сердечно-сосудистой системы человека. // Бюллетень ГНБС. 2025. № 156. С. 133–144.
104. Gilani A.H., Shah A.J., Zubair A., Khalid S., Kiani J., Ahmed A., Rasheed M., Ahmad V.U. Chemical composition and mechanisms underlying the spasmolytic and

- bronchodilatory properties of the essential oil of *Nepeta cataria* L. // J. Ethnopharmacol. 2009. V. 121. № 3. P. 405–411.
105. Grognet J. Catnip: Its uses and effects, past and present. // Can. Vet. J. 1990. V. 31. № 6. P. 455–456.
 106. PDR for Herbal Medicines. 4th ed. [Электронный ресурс]. Montvale: Thomson Healthcare. 2007. 1026 p. URL: https://archive.org/details/pdrforherbal-medi0000unse_j2i7 (дата обращения: 14.05.2026).
 107. Nadeem A., Shahzad H., Ahmed B., Muntean T., Waseem M., Tabassum A. Phytochemical profiling of antimicrobial and potential antioxidant plant: *Nepeta cataria*. // Front. Plant Sci. 2022. V. 13. P. 969316.
 108. Baghizadeh A., Mashayekhi Z., Ebrahimi M.A. Investigation of genetic and phytochemical diversity of some catnip (*Nepeta cataria* L.) populations by RAPD molecular marker and GC/MS method. // Iran. J. Med. Aromat. Plants Res. 2019. V. 34. № 5. P. 836–848.
 109. Joshi M., Karakoti H., Kumar R., Prakash O., Pant A.K., Rawat D.S. Chemical composition and biological activities of *Nepeta hindostana* (Roth) Haines, *Nepeta graciliflora* Benth. and *Nepeta cataria* L. from India. // J. Med. Herbs. 2021. V. 12. № 2. P. 35–46.
 110. Wesółowska A., Jadczyk D., Grzeszczuk M. Chemical composition of the essential oil of *Nepeta cataria* L. var. *citriodora* obtained by hydrodistillation and steam distillation. // Acta Chromatogr. 2011. V. 23. № 1. P. 169–180.
 111. Великородов А.В., Ковалев В.Б., Курбанова Ф.Х., Щепетова Е.В. Химический состав эфирного масла *Hyssopus officinalis* L., культивируемого в Астраханской области. // Химия растит. сырья. 2015. № 3. С. 101–108.
 112. Kumar V., Kaur N., Kaur A., Wadhwa P. Phytochemistry and pharmacology of Indian traditional plant hyssop (*Hyssopus officinalis* L.): A review. // Nat. Prod. J. 2023. V. 13. № 4. P. 11–41.
 113. Сень Т.В. Фармакогностическое изучение иссопа лекарственного: автореф. дис. ... канд. фармац. наук: 15.00.02. Курск. 2006. 23 с.

114. Чимитцыренова Л.И., Рандалова Т.Э., Чаленко Ю.В., Лещёва Ю.Н., Басхаева Т.Г., Раднаева И.З. Фармакогностическая характеристика иссопа лекарственного. // Вестник БГУ. Медицина и фармация. 2025. № 2. С. 66–74.
115. Sharifi-Rad J., Quispe C., Kumar M., Akram M., Amin M., Iqbal M., Koirala N., Sytar O., Kregiel D., Nicola S., Ertani A., Victoriano M., Khosravi-Dehaghi N., Martorell M., Alshehri M.M., Butnariu M., Pentea M., Rotariu L.S., Calina D., Cruz-Martins N., Cho W.C. Hyssopus essential oil: An update of its phytochemistry, biological activities, and safety profile. // Oxid. Med. Cell. Longev. 2022. V. 2022. P. 8442734.
116. Qazimi B., Stefkov G., Karapandzova M., Cvetkovikj Karanfilova I., Dragusha S., Ejupi V., Kulevanova S. Determination of volatile aroma compounds in fresh *Origanum vulgare* and *Hyssopus officinalis*: Headspace GC/FID/MS profile. // UBT Int. Conf. 2020.
117. Bulavin I.V., Ivanova N.N., Miroshnichenko N.N., Saplev N.M., Feskov S.A. Anatomy, ploidy level, and essential oil composition of *Hyssopus officinalis* «Nikitskiy Beliy» in vitro and ex situ. // Proc. Appl. Bot. Genet. Breed. 2024. V. 184. № 4. P. 21–30.
118. Plugatar Y.V., Bulavin I.V., Ivanova N.N., Miroshnichenko N.N., Saplev N.M., Shevchuk O.M., Naumenko T.S., Feskov S.A. Study of the component composition of essential oil, morphology, anatomy and ploidy level of *Hyssopus officinalis* f. *cyaneus* Alef. // Horticulturae. 2023. V. 9. № 4. P. 480.
119. Гребенникова О.А., Палий А.Е., Хлыпенко Л.А., Работягов В.Д. Биологически активные вещества *Hyssopus officinalis* L. // Орбиталь. 2017. № 1. С. 21–28.
120. Baj T., Korona-Glowniak I., Kowalski R., Malm A. Chemical composition and microbiological evaluation of essential oil from *Hyssopus officinalis* L. with white and pink flowers. // Open Chem. 2018. V. 16. P. 317–323.
121. Курамагомедов М.К., Алиев А.М., Исламова Ф.И., Мамалиева М.М., Раджабов Г.К., Мусаев А.М. Компонентный состав эфирных масел и антиоксидантная активность сортов *Hyssopus officinalis* L., интродуцированных в горных

- условиях Дагестана. // Вопр. биол., мед. и фармац. химии. 2020. Т. 23. № 12. С. 46–52.
122. Venditti A., Bianco A., Frezza C., Conti F., Maleci Bini L., Giuliani C., Bramucci M., Quassinti L., Damiano S., Lupidi G., Beghelli D., Caterbi S., Petrelli D., Vitali L.A., Papa F., Caprioli G., Maggi F. Essential oil composition, polar compounds, glandular trichomes and biological activity of *Hyssopus officinalis* subsp. *aristatus* (Godr.) Nyman from central Italy. // *Ind. Crops Prod.* 2015. V. 77. P. 353–363.
 123. Pandey V., Verma R.S., Chauhan A., Tiwari R. Compositional variation in the leaf, flower and stem essential oils of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) from Western Himalaya. // *J. Herb. Med.* 2014. V. 4. № 2. P. 89–95.
 124. Романова М.Г., Бузук А.Г. Изучение химического состава эфирного масла змееголовника молдавского (*Dracosephalum moldavica* L.), культивируемого в Витебской области. // *Вестн. фармации.* 2020. № 1 (87). С. 43–49.
 125. Dastmalchi K., Damien Dorman H.J., Koşar M., Hiltunen R. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracosephalum moldavica* L.) extract. // *LWT – Food Sci. Technol.* 2007. V. 40. № 2. P. 239–248.
 126. Fattahi A., Shakeri A., Tayarani-Najaran Z., Kharbach M., Segers K., Van der Heyden Y., Taghizadeh S.F., Rahmani H., Asili J. UPLC-PDA-ESI-QTOF-MS/MS and GC-MS analysis of Iranian *Dracosephalum moldavica* L. // *Food Sci. Nutr.* 2021. V. 9. № 8. P. 4278–4286.
 127. Звездина Е.В., Шейченко О.П. Исследования по стандартизации травы змееголовника молдавского (*Dracosephalum moldavica* L.). // *Вопр. биол., мед. и фармац. химии.* 2019. Т. 22. № 4. С. 7–12.
 128. Коняева Е.А., Куляк О.Ю., Радимич А.И., Бурова А.Е., Шейченко О.П., Сайбель О.Л. Подходы к стандартизации травы змееголовника молдавского. // *Фармация.* 2025. Т. 74. № 3. С. 13–20.
 129. Zhan M., Ma M., Mo X., Zhang Y., Li T., Yang Y., Dong L. *Dracosephalum moldavica* L.: An updated comprehensive review of its botany, traditional uses,

- phytochemistry, pharmacology, and application aspects. // *Fitoterapia*. 2024. V. 172. P. 105732.
130. Abbasi N., Fattahi M., Ghosta Y., Sefidkon F. Volatile compounds and antifungal activity of *Dracocephalum moldavica* L. at different phenological stages // *J. Essent. Oil Res.* 2022. V. 34. №. 1. P. 87–95.
 131. Janmohammadi M., Yousefzadeh S., Sabaghnia N. Chemical Comparison of Essential Oils in Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) Samples Grown in Different Areas // *J. Essent. Oil Bear. Plants*. 2018. V. 21. № 4. P. 950–962.
 132. Acimovic M., Stankovic J., Cvetkovic M., Todosijević M., Rat M. The chemical composition of the essential oil of *Dracocephalum moldavica* L. from Vojvodina Province (Serbia) // *Biologica Nyssana*. 2019. V. 10. P. 23–28.
 133. Said-Al Ahl H., Sabra A., Gendy A.N., Aziz E., Tkachenko K. Changes in content and chemical composition of *Dracocephalum moldavica* L. essential oil at different harvest dates // *J. Med. Plants Stud.* 2015. V. 3. № 2. P. 61–64.
 134. Golparvar A.R., Hadipanah A., Gheisari M.M., Khaliliazar R. Chemical constituents of essential oil of *Dracocephalum moldavica* L. and *Dracocephalum kotschyi* Boiss. from Iran // *Acta Agric. Slov.* 2016. V. 107. № 1. P. 25–31.
 135. Abd El-Baky H.H., El-Baroty G.S. Chemical and biological evaluation of the essential oil of Egyptian Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) // *Int. J. Essent. Oil Ther.* 2008. V. 2. № 2. P. 76–81.
 136. Kakasy A., Papp-Füzfa Z., Kursinszki L., Molnár-Perl I., Lemberkovics É. Analysis of non-volatile constituents in *Dracocephalum* species by HPLC and GC-MS // *Chromatographia*. 2006. V. 63. № 1. P. 17–22.
 137. Лаванды узколистной цветки: проект фармакопейной статьи // Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. 2024. [Электронный ресурс]. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia-projects/izdanie-15/lavandy-uzkolistnoy-tsvetki/?vers=6413> (дата обращения: 14.05.2026).
 138. Garzoli S., Laghezza Masci V., Franceschi S., Tiezzi A., Giacomello P., Ovidi E. Headspace/GC–MS Analysis and Investigation of Antibacterial, Antioxidant and

- Cytotoxic Activity of Essential Oils and Hydrolates from *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* Miller // *Foods*. 2021. V. 10. № 8. P. 1768.
139. Karadağ M., Koyuncu M., Atalar M.N., Aras A. SPME/GC-MS analysis of *Artemisia campestris* subsp. *glutinosa*, *Lavandula angustifolia* Mill., and *Zingiber officinale* volatiles // *Erzincan Univ. Fen Bilim. Enst. Derg.* 2021. V. 14. № 2. P. 41–49.
 140. Torabbeigi M., Aberoomand Azar P. Analysis of essential oil compositions of *Lavandula angustifolia* by HS-SPME and MA-HS-SPME followed by GC and GC-MS // *Acta Chromatogr.* 2013. V. 25. № 3. P. 571–579.
 141. Saifi M., Didouh N., Aissaoui N., Khiri Z., Medjahdi K., Achek R., Daoud I., Araujo R. Chemical Composition and Antibacterial Potential of *Lavandula latifolia* and *Lavandula angustifolia* Essential Oils Against *Bacillus cereus* Isolated From Pipelines of Dairy Industry // *Chem. Biodivers.* 2026. V. 23. № 1. P. e202501821.
 142. Negi P., Andola H., Rawat M.S.M., Pant G. GC-MS Analysis of Essential Oil from *Lavandula angustifolia* Cultivated in Garhwal Himalaya // *Nat. Prod. J.* 2015. V. 5. № 4. P. 268–272.
 143. Küçük S., Çetintaş E., Kurkcuoğlu M. Volatile compounds of the *Lavandula angustifolia* Mill. (Lamiaceae) species cultured in Turkey // *J. Turk. Chem. Soc., Sect. A.* 2019. V. 5. № 3. P. 1303–1308.
 144. Tarassoli Z., Faraji H., Tajabadi F., Shabani M., Shahbaazi H. Evaluation of adulteration in *Lavandula angustifolia* Mill. products using GC/MS combined with chemometric methods // *J. Med. Plants.* 2021. V. 20. № 80. P. 34–46.
 145. Ahamad J., Kala D., Anwer E.T., Uthirapathy S. Characterization of Chemical Compounds in Volatile Oil and Ethyl Acetate Extract of *Lavandula angustifolia* by GC-MS // *Eurasian J. Sci. Eng.* 2021. V. 7. № 2. P. 10–20.
 146. Kačániová M., Vukovic N., Ban Z., Li L., Ben Hsouna A., Ben Saad R., Elizondo-Luevano J.H., Bianchi A., Popovic S., Garzoli S. *Lavandula angustifolia* essential oil: GC–MS composition, in vitro antimicrobial activity, vapor-phase efficacy on fruit and vegetable models, and anti-*Escherichia coli* effect in sous-vide potatoes // *J. Food Saf.* 2025. V. 45. № 1. P. e70043.

147. Massart D.L. Chemometrics: a textbook. NY.: Elsevier. 1988. 488 p.
148. Geladi P., Esbensen K. Chemometrics a growing and maturing discipline (Editorial) // Chemom. Intell. Lab. Syst. 1990. V. 7. № 3. P. 197.
149. Brereton R.G. Chemometrics: Data analysis for the laboratory and chemical plant. UK: Chichester. 2003. 489 p.
150. Родионова О.Е., Померанцев А.Л. Хемометрика в аналитической химии. М.: Институт им. Семенова РАН. 2009. 61 с.
151. Парийчук Н.В. Парофазный газохроматографический анализ... : дис. ... канд. хим. наук : 02.00.02 / Н.В. Парийчук. Самара, 2018. 174 с.
152. Otto M. Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry. 4th ed. Weinheim: Wiley VCH, 2024. 352 p.
153. Comprehensive Chemometrics: Chemical and Biochemical Data Analysis : in 4 vol. / ed. S. Brown, R. Tauler, B. Walczak. 2nd ed. Amsterdam : Elsevier, 2020. V. 4.
154. Яшин Я.И., Яшин Е.Я., Яшин А.Я. Газовая хроматография. М.: ТрансЛит, 2009. 451 с.
155. Marriott P.J., Shellie R., Cornwell C. Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils // J. Chromatogr. A. 2001. V. 936. № 1. P. 1–22.
156. Ткачев. А.В. Исследование летучих веществ растений. Новосибирск : Офсет, 2008. 969 с.
157. База данных NIST [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://webbook.nist.gov/chemistry/> (дата обращения: 02.05.2026).
158. Сенченко С.П., Компанцева Е.В. Изучение электрофоретического поведения флавоноидов с целью разработки методологических подходов к их анализу в условиях капиллярного зонного электрофореза // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 4.
159. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Ч. 1. Основные положения и определения. М. : Издательство стандартов, 2002. 32 с.
160. Дёрффель К. Статистика в аналитической химии. М. : Мир, 1994. 268 с.

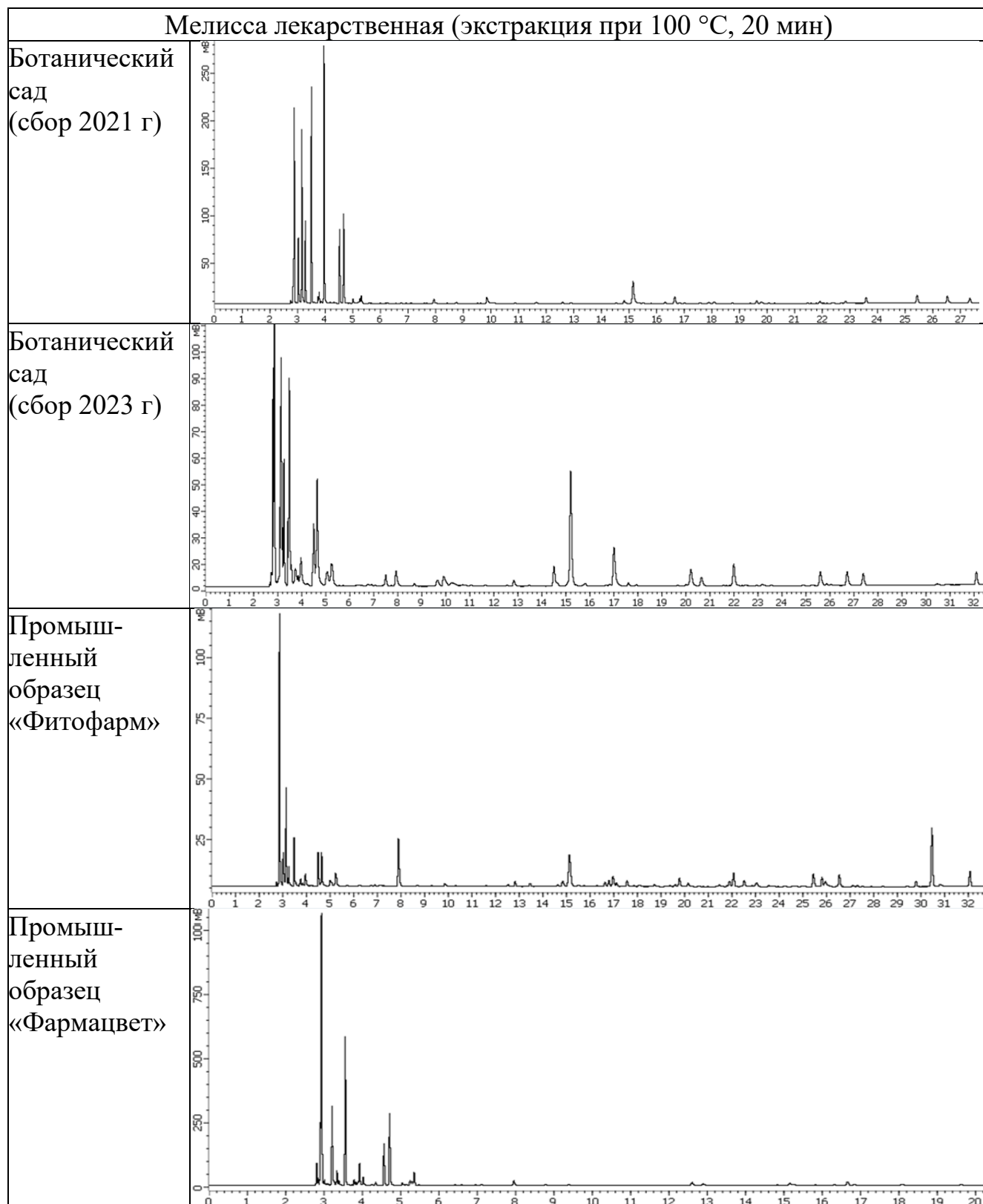
161. Патент № 2619044 РФ. Способ подготовки пробы лекарственного растительного сырья для парофазного анализа / Ю. И. Арутюнов, Л. А. Онучак, К. А. Копытин, Н. В. Ермакова. № 2016108736 ; заявл. 10.03.2016 ; опубл. 11.05.2017, Бюл. № 14. 12 с.
162. Чепелянский Д.А. Новые подходы к анализу смесей летучих и среднелетучих органических соединений методами ГХ и ГХ/МС, основанные на использовании хроматодистилляции : автореф. дис. ... канд. хим. наук : 02.00.02 / Д.А. Чепелянский. М., 2014. 27 с.
163. Приволжское УГМС: официальный сайт. Самара, 2023. URL: <https://pogodasv.ru/> (дата обращения: 14.05.2026).
164. Qiao M., Hong C., Jiao Y., Hou S., Gao H. Impacts of drought on photosynthesis in major food crops and the related mechanisms of plant responses to drought // *Plants*. 2024. V. 13. № 13. P. 1808.
165. Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия : учебник для студентов фармацевтических вузов. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2002. 656 с.
166. Никитина А.С. Фармакогностическое изучение змееголовника молдавского (*Dracoscephalum moldavica* L.) и иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis* L.) с целью обоснования применения в фармации и медицине : дис. ... канд. фарм. наук / А.С. Никитина. М., 2008. 210 с.
167. Esan C.O., Talabi J.Y., Enujiugha V.N., Sanni D.M. Extraction, purification and characterization of Lipoxygenase from African oil bean (*Pentaclethra macrophylla* Benth.) seed // *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2023. V. 52. P. 102838.
168. Guo X., Wang P. Aroma characteristics of lavender extract and essential oil from *Lavandula angustifolia* Mill. // *Molecules*. 2020. V. 25. № 23. P. 5541.
169. Pang Z., Lu Y., Zhou G., Hui F., Xu L., Viau C., Spigelman A.F., MacDonald P.E., Wishart D.S., Li S., Xia J. MetaboAnalyst 6.0: towards a unified platform for metabolomics data processing, analysis and interpretation // *Nucleic Acids Res.* 2024. V. 52. № 1. P. 398–406.

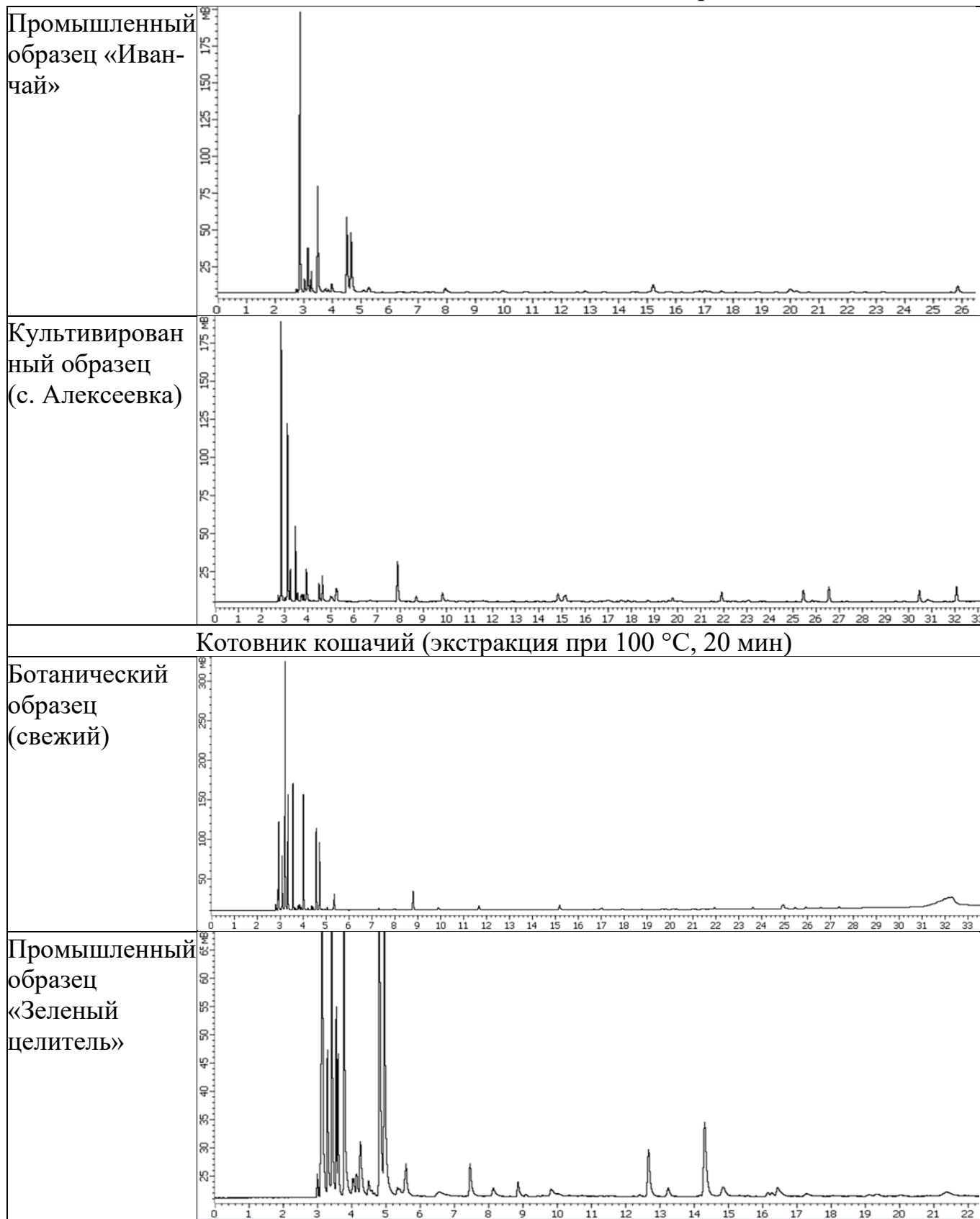
170. Van den Berg R.A., Hoefsloot H.C.J., Westerhuis J.A., Smilde A.K., van der Werf M.J. Centering, scaling, and transformations: improving the biological information content of metabolomics data // *BMC Genomics*. 2006. V. 7. P. 142.
171. Arceusz A., Wesolowski M., Ulewicz-Magulska B. Flavonoids and phenolic acids in methanolic extracts, infusions and tinctures from commercial samples of lemon balm // *Nat. Prod. Commun.* 2015. V. 10. № 6. P. 977–981.
172. Petrisor G., Motelica L., Craciun L.N., Oprea O.C., Fikai D., Fikai A. *Melissa officinalis*: composition, pharmacological effects and derived release systems – a review // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 7. P. 3591.
173. Гребенникова О.А., Палий А.Е., Логвиненко Л.А. Биологически активные вещества мелиссы лекарственной // *Учен. зап. Крым. федер. ун-та им. В.И. Вернадского. Биол. хим.* 2013. Т. 26 (65). № 1. С. 43–50.
174. Arceusz A., Wesolowski M. Quality consistency evaluation of *Melissa officinalis* L. commercial herbs by HPLC fingerprint and quantitation of selected phenolic acids // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2013. V. 83. P. 215–220.
175. Abdellatif F., Begaa S., Messaoudi M. et al. HPLC–DAD analysis, antimicrobial and antioxidant properties of aromatic herb *Melissa officinalis* L., aerial parts extracts // *Food Anal. Methods*. 2023. V. 16. P. 45–54.
176. Stanciu G., Aonofriesei F., Lupsor S., Popescu A., Sirbu R. Study of phenolic compounds and antimicrobial activity of *Lavandula angustifolia* L. flowers macerates // *Rev. Chim.* 2019. V. 70. № 5. P. 1800–1804.
177. Cesur Turgut A., Emen F., Seçilmiş H., Demirdogen R.E., Çam N., Kiliç D., Yeşilkaynak T. Chemical characterization of *Lavandula angustifolia* Mill. which is a phytocosmetic species and investigation of its antimicrobial effect in cosmetic products // *J. Turk. Chem. Soc., Sect. A*. 2017. V. 4. № 1. P. 283–298.
178. Dobros N., Zawada K., Paradowska K. Phytochemical profile and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* and *Lavandula* × *intermedia* cultivars extracted with different methods // *Antioxidants*. 2022. V. 11. № 4. P. 711.

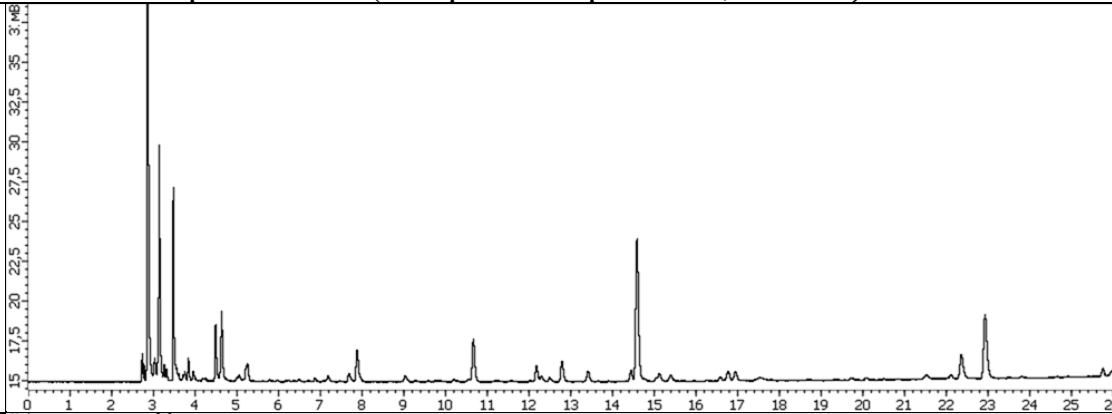
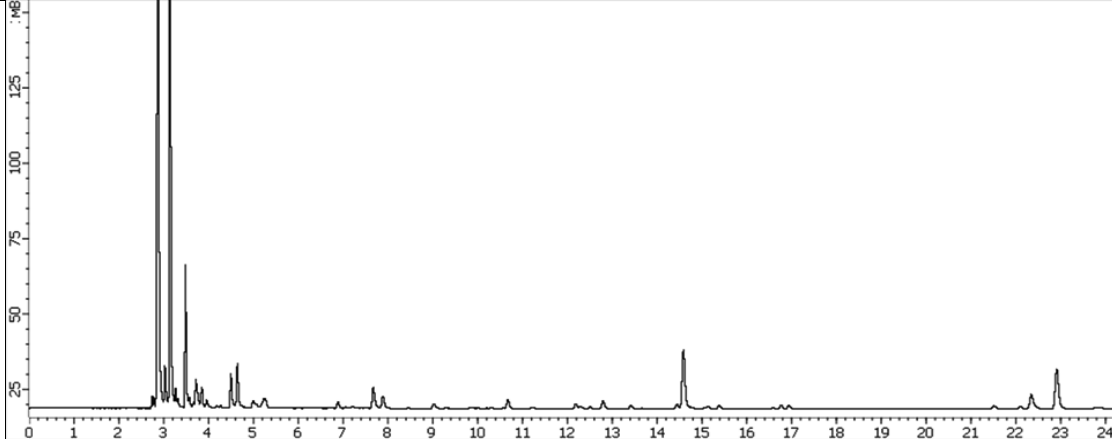
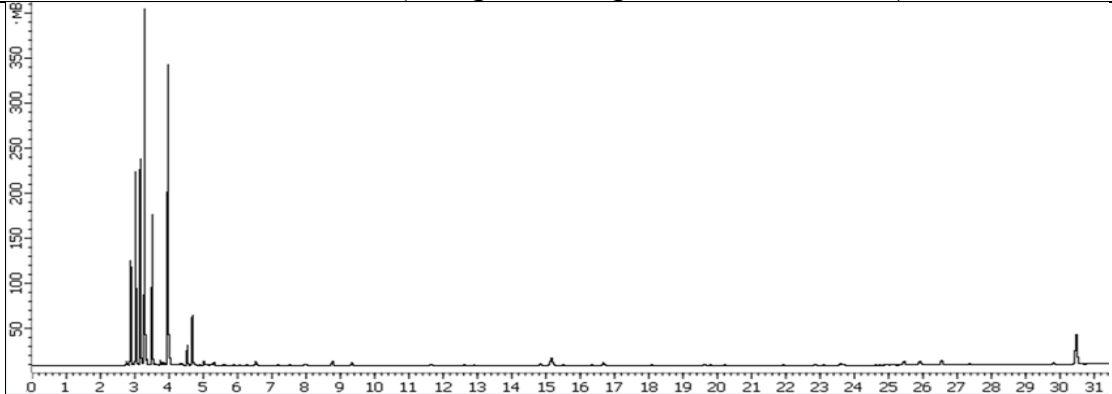
179. Yahya M.A., Tunalı F., Killi D., Sokmen A. Phenolic profile and volatiles of in vitro propagated *Lavandula angustifolia* Mill. seedlings // *Phyton*. 2024. V. 93. № 3. P. 427–444.
180. Marovska G.I., Hambarliyska I.P., Petkova N.T., Ivanov I.G., Vasileva I.N., Slavov A.M. Chemical composition and antioxidant activity of ethanol extracts obtained from lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) // *Philipp. J. Sci.* 2023. V. 152. № 3. P. 861–870.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 1 – Хроматограммы РПФ сухого растительного сырья (ПФА-ГХ-ПИД)





Иссоп лекарственный (экстракция при 80 °С, 20 мин)	
Промыш- ленный образец «Родные травы»	
Промыш- ленный образец «Русские корни»	
Змееголовник молдавский (экстракция при 100 °С, 20 мин)	
Образец ВИЛАР (сбор 2023 г; анализ 2025 г)	
Промыш- ленный образец «Хорст» 2023 г	