

© Лякина М. Н., 2002

М. Н. Лякина

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА СУММЫ ТЕРПЕНОИДОВ НАСТОЕК ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ МИЛЕФОЛИУМ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ СВЕЖЕГО И ВЫСУШЕННОГО СЫРЬЯ

Институт стандартизации лекарственных средств НЦ ЭГКПС

(Научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств), Москва

Тысячелистник обыкновенный издавна применяется в медицинской практике в качестве противовоспалительного средства при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, как кровоостанавливающее при маточных кровотечениях и геморрое. В качестве лекарственного сырья (трава тысячелистника) используется для получения настоя в домашних условиях, в производственных — для получения экстракта жидкого, входящего в состав препарата “Ротокан”. В гомеопатии [1] тысячелистник обыкновенный применяют при головных болях с носовыми кровотечениями, кровотечениях из носа и горла на почве застойных явлений, связанных с расстройством сердечной деятельности, при варикозном расширении вен и кровоточащих варикозных язвах с сильными болями, при кишечных

кровотечениях, кровотечениях из геморроидальных узлов. В гомеопатической фармации настойка тысячелистника обыкновенного используется в качестве субстанции при изготовлении различных лекарственных средств. Однако при наличии 349 зарегистрированных препаратов (по состоянию на декабрь 2001 г) зарегистрировано всего лишь 8 гомеопатических настоек: Арника, Гамамелис, Гиперикум, Курдлипид, Ледум, Овса настойка, Рус, Эскулюс (по ФСП) и Бриония (по ВТУ). Большинство из них изготовлены из высушенного сырья и соответствуют разведению Д 1, что во многих случаях (согласно результатам исследований, проведенных в НИИ фармации), не может служить эквивалентом настойки, полученной из свежего сырья.

Состав терпеноидов из настоек Милефолиум гомеопатических, полученных из свежего и высушенного сырья

Состав терпеноидов образца $T_{св}$				Состав терпеноидов образца $T_{сх}$			
Степень вероятности, %	Вещество	Содержание, %	$t_{уд}$, мин	Степень вероятности, %	Вещество	Содержание, %	$t_{уд}$, мин
—	—	—	—	96	α -пинен	2,42	6,36
—	—	—	—	94	камфен	0,24	6,62
95	сабинен	4,93	7,01	94	сабинен	9,44	7,08
97	α -пинен	11,96	7,13	96	2- β -пинен	3,59	7,15
—	—	—	—	—	псевдо-кумен	3,20	7,45
97	1,8-цинеол	18,28	8,12	98	1-лимонен	29,92	8,08
93	γ -терпен	2,20	8,59	95	1,8-цинеол	5,27	8,13
93	<i>транс</i> -сабинен гидрат	2,49	8,74	—	—	—	—
97	камфора	2,57	10,06	—	—	—	—
96	1,4-терпинеол	3,08	10,56	—	—	—	—
90	β -фенхол	2,49	10,77	—	—	—	—
94	4-туйен-2- α -ил ацетат	1,07	11,98	95	4-туйен-2- α -ил ацетат	0,50	11,99
90	лавандил ацетат	1,85	12,17	91	лавандил ацетат	5,19	12,17
99	<i>транс</i> -кариофиллен	10,52	14,06	99	<i>транс</i> -кариофиллен	8,78	14,06
96	α -хумулен	1,26	14,5	97	α -хумулен	1,27	14,5
98	гермакрен – D	11,62	14,85	98	гермакрен – D	5,09	14,84
—	—	—	—	91	кариофиллен оксид	2,54	16,12
—	—	—	—	95	γ -селинен	0,94	16,22
—	—	—	—	93	эпизонарен	3,14	16,56
—	—	—	—	60	α -лонгипинен	0,60	17,10
91	фитол	11,20	21,44	91	фитол	7,59	21,44

Таким образом, все очевидней становится необходимость разработки нормативной документации на наиболее часто используемые настойки матричные гомеопатические.

Ранее [2] были опубликованы результаты исследования биологически активных веществ настойки гомеопатической матричной Миллефолиум методом хроматографии в тонком слое сорбента. При этом были идентифицированы борнеол, ментол, лимонен и пара-цимол.

По данным [3 – 5] в составе эфирного масла тысячелистника обыкновенного, произрастающего в Америке, Венгрии, Средней Азии, были разделены методом ГЖХ и идентифицированы: камфен, лимонен, 1,8-цинеол, пара-цимол, борнеол, камфора, сабинен, мирцен, α - и β -пинен, борнилацетат, кариофиллен, гумулен, кадинен.

Терпены являются летучими соединениями и поэтому вполне пригодны для анализа методом ГЖХ; разделение смесей монотерпенов, в частности эфирных масел сложного состава, этим методом хорошо отработано в настоящее время [6]. Основными методами исследования компонентного состава эфирных масел в настоящее время являются газо-жидкостная хроматография и хроматомасс-спектрометрия с использованием капиллярных колонок [7]. Учитывая определенные трудности — отсутствие стандартных образцов, необходимых для идентификации результатов разделения, метод хроматомасс-спектрометрии имеет первостепенное значение [6]. Поэтому дальнейшее исследование компонентного состава суммы терпеноидов, выделенных из настоек Милефолиум, полученных из свежего и высушенного сырья, было продолжено методом хроматомасс-спектрометрии.

Цель настоящего исследования — более точная и полная идентификация состава суммы терпеноидных соединений гомеопатических настоек Миллефолиум с использованием возможностей метода хроматомасс-спектрометрии.

Материалы и методы

Объектами исследования были настойки гомеопатические Миллефолиум, полученные с соблюдением правил гомеопатической технологии (по методу 3 — из свежего сырья, собранного во время цветения в 1999 г в Видновском районе Московской области, и по методу 4 — из сырья, собранного в тех же условиях и высушенного в защищенном от прямого солнечного света и хорошо проветриваемом помещении, согласно ВФС 42 – 2799 – 96) из надземной части растения тысячелистника обыкновенного *Achillea millefolium* L., семейства астровые — *Asteraceae*.

Исследованию подвергались пробы, полученные по следующей методике: в делительную воронку вместимостью 50 мл помещали 3 мл настойки, полученной из свежего сырья ($T_{св}$) и из высушенного сырья ($T_{сх}$), прибавляли 3 мл воды очищенной, 6 мл гексана и встряхивали в течение 3 мин. Экстракцию повторяли

еще 3 раза, используя каждый раз по 6 мл гексана. Объединенные гексановые извлечения фильтровали через бумажный фильтр с натрия сульфатом безводным в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили тем же растворителем до метки.

Хроматомасс-спектрометрическое исследование образцов $T_{св}$ и $T_{сх}$ осуществлялось с использованием хроматомасс-спектрометра НР с хроматографом НР 6890 и масс-селективным детектором НР 5973. Хроматографировали образцы проб на кварцевой капиллярной колонке размером 30 м × 0,25 мм на метилфенил-силиконе (НР-5) в следующих условиях:

- начальная температура колонки 70 °С;
- время задержки растворителя — 3,0 мин;
- время выдержки при начальной температуре — 3,5 мин;
- подъем температуры в диапазоне 70 – 170 °С 7 °С/мин;
- время выдержки при температуре 170 °С — 1,5 мин;
- подъем температуры в диапазоне 170 – 280 °С 15 °С/мин;
- время выдержки при конечной температуре — 1,5 мин;
- скорость газа носителя (гелий) — 1 мл/мин;
- температуры инжектора, интерфейса и масс – селективного детектора — 250; 280 и 230 °С соответственно;

- объем пробы, вводимой автоматическим сэмплером (без сброса) 1 мкл;
- давление в инжекторе программируется с 8,8 до 22,0 фунтов/дюйм²;
- диапазон масс 39 – 600 ат. ед. масс.

Идентификация исследуемых образцов проводилась по сопоставлению трех факторов: времен удерживания пиков, масс-спектров электронного удара и ионных масс-хроматограмм исследуемого образца с базой данных в библиотеке масс-спектров: WILEY 275 L.

По результатам исследования в настойках из сухого и свежего сырья были обнаружены и идентифицированы следующие соединения (таблица).

Наиболее распространенной формой обработки и представления данных для метода хроматомасс-спектрометрии является метод внутренней нормализации с выражением количества каждого компонента в процентах от их общей суммы. В таблице представлены результаты определения каждого (в процентах) из идентифицированных соединений, выделенных из настоек гомеопатических Милефолиум (полученных из свежего и высушенного сырья).

Следующим этапом исследования была оценка общего содержания суммы терпеноидов в настойках Милефолиум с помощью метода абсолютной калибровки, а в качестве внешнего стандарта была выбрана камфора.

Предварительными экспериментами были подобраны оптимальные разведения для каждой из анализируемых проб. При этом гексановое извлечение, полученное из настойки Милефолиум из высушенного сырья, не подвергалось дальнейшему разведению, а гексано-

вое извлечение, полученное из настойки Милефолиум из свежего сырья, разводили в 2 раза. Для этого 5 мл полученного образца ($T_{св}$) помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили гексаном до метки ($T_{св1}$).

Содержание суммы терпеноидов в пересчете на камфору (в %) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{S \cdot 25 \cdot m_{PCO} \cdot V_{PCO} \cdot 1,6 \cdot 100}{S_0 \cdot 3 \cdot V_{пр} \cdot 50 \cdot 25,6},$$

где: S — площадь пиков терпеноидов на хроматограмме испытуемого образца, отн. ед.; S_0 — площадь пика внешнего стандарта на хроматограмме РСО камфоры, отн. ед.; m_{PCO} — масса навески РСО камфоры, г; $V_{пр}$ — объем вводимой пробы, мкл; 3 — объем раствора испытуемой настойки Милефолиум, взятой для анализа, мл; 1,6; 25,6; 50 — разведения РСО, мл; 25 — разведение, мл.

Примечание. Приготовление раствора РСО камфоры. Около 0,0432 г камфоры рацемической (ФС 42-2315-93) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и растворяют в гексане (раствор А). 1,6 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и приливают 24 мл гексана (раствор Б).

Результаты определения суммы терпеноидов в настойках Милефолиум показали, что их содержание в настойке из свежего и высушенного сырья составляет 0,0185 и 0,0195 %, соответственно.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что в составе суммы терпеноидов настоек Милефолиум, полученных по разным технологиям, присутствуют общие для них соединения: сабинен с временем удерживания (мин) примерно 7,01, β -пинен — 7,13, 1,8-цинеол — 8,12, 4-туйен-2- α -ил ацетат — 11,98, лавандил ацетат — 12,17, *транс*-кариофиллен — 14,06, α -хумулен — 14,5 и гермакрен-Д — 14,85.

Для терпеноидной фракции, выделенной из настойки Милефолиум, полученной из высушенного сырья,

характерно присутствие следующих соединений с временами удерживания (мин) примерно: α -пинена — 6,36; камфена — 6,62; псевдо-кумена — 7,45; 1-лимонена — 8,08; кариофиллен оксид — 16,12; γ -селинен — 16,22; эпизонарен — 16,56; и α -лонгипинен — 17,10.

Для терпеноидной фракции, выделенной из настойки Милефолиум, полученной из свежего сырья, характерно присутствие следующих соединений с временами удерживания (мин) примерно: γ -терпен — 8,59; *транс*-сабинен гидрат — 8,74; камфора — 10,06; 1,4-терпинеол — 10,56; β -фенхол — 10,77.

Содержание суммы терпеноидов в пересчете на камфору в настойках гомеопатических Милефолиум, полученных по разным технологиям, примерно равно и составило около 0,02 %.

Таким образом, методом хроматомасс-спектрометрии осуществлена идентификация терпеноидов, выделенных из настоек гомеопатических Милефолиум, полученных по разным технологиям. Показано отличие качественного состава суммы терпеноидов настоек из свежего и высушенного сырья. Установлено, что содержание суммы терпеноидов в настойке из свежего и сухого сырья составляет 0,0185 % и 0,0195 % соответственно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. М. Вавилова, *Гомеопатическая фармакодинамика*, Часть 2, Смоленск — “Гомеопатический центр”, Москва — “Эверест” (1994) с. 288.
2. М. Н. Лякина, З. П. Костенникова, *Материалы съезда гомеопатов России*, Новосибирск (1999), сс. 249 – 252
3. M. Y. Haggag, A. S. Shalaby, G. Versar-Petri, *Planta med.*, **27**, 361 – 366 (1975).
4. E. A. Wejnarowicz, S. J. Smolenski, *J. Pharm. Sci.*, **57**(12), 2160 – 2161 (1968).
5. А. Д. Дембицкий, Р. А. Юрина, Г. И. Кротова, *Материалы 4-го симпозиума по эфиромасл. раст. и маслам (Симферополь, 1 – 4 октября, 1985 г)*, Тез. докл. и сообщ., Ч. 2, Симферополь (1985), с. 62.
6. *Хроматография. Практическое приложение метода*, Э. Хефтман (ред.), Ч. 1, Мир, Москва (1986).
7. И. Г. Зенкевич, В. М. Косман, К. Г. Ткаченко, *Растит. ресурсы*, **35**(1), 128 – 136 (1999).

Поступила 25.04.02