

На правах рукописи

Парийчук

Парийчук Нина Владимировна

**ПАРОФАЗНЫЙ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕТУЧИХ
КОМПОНЕНТОВ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И
ФИТОПРЕПАРАТОВ**

02.00.02 – аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Воронеж – 2018

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Онучак Людмила Артемовна

Официальные оппоненты: **Суханов Павел Тихонович**, доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», факультет экологии и химической технологии, кафедра физической и аналитической химии, профессор

Сумина Елена Германовна, доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский университет имени Н.Г. Чернышевского», институт химии, кафедра аналитической химии и химической экологии, профессор

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный университет», г. Краснодар

Защита диссертации состоится «13» марта 2019 года в 14 ч 00 мин на заседании диссертационного совета Д 212.038.19 по химическим наукам при Воронежском государственном университете по адресу: 394018, г. Воронеж, Университетская пл., 1, химический факультет, ауд. 439.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Воронежского государственного университета и на сайте: <http://www.science.vsu.ru>.

Автореферат разослан «18» января 2019 г.

Учёный секретарь диссертационного совета



Столповская Н.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Растительные лекарственные средства, как правило, сочетают широту терапевтического действия и относительную безопасность. В связи с этим фармацевтическая промышленность проявляет все больший интерес к разработке и выпуску фитопрепаратов в виде травяных сборов, эфирных масел, настоек, таблеток и капсул. Определение подлинности и содержания действующих биологически активных соединений в исходном лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах представляет сложную аналитическую задачу из-за их многокомпонентного состава. Газо-жидкостную хроматографию с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ–МС) в настоящее время широко применяют в практике анализа лекарственного растительного сырья (ЛРС) для определения его подлинности, ареала произрастания, наличия в сырье близкородственных и других примесей. В качестве объектов анализа в методе ГХ–МС традиционно используют жидкие пробы эфирного масла или экстрактов ЛРС, определяя в них органические соединения с достаточно широким диапазоном летучести, включая малолетучие. Вследствие применения различных способов получения эфирного масла и экстрактов их составы могут сильно различаться¹. Для получения характерного для данного растения газохроматографического профиля, не осложненного способами перегонки и/или экстракции, можно использовать метод прямого статического парофазного анализа (ПФА) в оптимизированных условиях газовой экстракции, обеспечивающих извлечение компонентов, в том числе, наиболее летучих. Закономерности статического и динамического вариантов ПФА подробно рассмотрены в работах²⁻⁴. Вместе с тем возможности метода ПФА для анализа летучих компонентов ЛРС не до конца раскрыты и представлены в ограниченном числе работ. Практически отсутствуют работы, в которых этот метод применяется для исследования фитопрепаратов. Отсюда вытекает актуальность диссертационной работы, посвященной исследованию границ применимости метода ПФА–ГХ по диапазону летучести определяемых компонентов и возможности применения этого метода для установления подлинности ЛРС и фитопрепаратов.

Актуальность темы данной работы подтверждается поддержкой грантов №4.110.2014/к и №4.5883.2017/8.9 в рамках выполнения госзадания Министерства образования и науки Российской Федерации.

Цель работы состояла в выявлении возможностей статического парофазного газохроматографического анализа для определения летучих и среднелетучих органических соединений в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах и оценке применимости этого метода для установления их подлинности.

Для достижения данной цели поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить закономерности газовой экстракции из осушенного лекарственного растительного сырья (цветки, трава, плоды) и выявить условия формирования равновесной паровой фазы, содержащей летучие и среднелетучие компоненты.

2. Методом статического парофазного газохроматографического анализа определить качественный и количественный состав паровой фазы лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов.

3. Установить совокупность основных летучих и среднелетучих компонентов лекарственного растительного сырья и выделить возможные специфические компоненты (маркеры) из всего спектра органических соединений, выделившихся в паровую фазу.

¹ Милевская В.В., Статкус М.А., Темердашев З.А. и др. // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70, № 12. С. 1255-1263.

² Витенберг А.Г. Газовая экстракция в хроматографическом анализе. Л.: Химия, 1982. 279 с.

³ Хахенберг Х., Газохроматографический анализ равновесной паровой фазы. М.: Мир, 1979. 160 с.

⁴ Kolb B. Static Headspace-Gas Chromatography: Theory and Practice. New York: Wiley VCH, 1997. 341 p.

4. Представить газохроматографические профили исследованных образцов лекарственного растительного сырья в виде зависимостей «относительная площадь пика – индекс удерживания» (headspace-спектры) для установления возможности определения их подлинности с использованием общего образа объекта.

5. Провести хемометрическую обработку результатов парофазного анализа лекарственного растительного сырья с целью определения видового различия, фирмы-производителя, партии.

6. Оценить возможности метода статического ПФА для установления подлинности фитопрепаратов.

Научная новизна:

1. Предложены критерии оптимизации условий газовой экстракции летучих и среднелетучих компонентов из осушенного лекарственного растительного сырья, предусматривающие наиболее полное выделение летучих и среднелетучих компонентов из растительной матрицы, достижение равновесного состава паровой фазы (без химических превращений в контактирующих фазах), получение характерного газохроматографического профиля ЛРС в условиях статического парофазного анализа.

2. Установлена совокупность летучих компонентов в равновесной паровой фазе (РПФ) для каждого из лекарственных растений, выявлены основные компоненты и предложены специфические маркеры, характеризующие индивидуальность и подлинность ЛРС.

3. Показано, что headspace-хроматограммы ЛРС и фитопрепаратов отражают наличие наиболее летучих и среднелетучих компонентов растения, тогда как хроматограммы эфирных масел – набор средне- и малолетучих соединений. Эти два хроматографических профиля дополняют друг друга и показывают всю совокупность летучих вторичных метаболитов растения.

4. Предложено в качестве общего образа многокомпонентного объекта анализа (газового экстракта ЛРС) использовать диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» (headspace-спектры), демонстрирующие качественный и количественный состав газового экстракта и позволяющие установить подлинность ЛРС.

5. Метод статического парофазного анализа предложен для экспрессного определения подлинности фитопрепаратов с различной лекарственной формой (эфирное масло, спиртовой и масляный экстракты, таблетированные и капсулированные сухие экстракты).

Теоретическая и практическая значимость работы. Выявление закономерностей газовой экстракции летучих органических соединений из сложных растительных матриц способствует развитию парофазного анализа гетерогенных конденсированных фаз. Полученные результаты могут быть использованы для разработки экспрессных и доступных методов определения подлинности лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов по совокупности газохроматографических характеристик удерживания летучих компонентов равновесной паровой фазы. Предлагаемый метод может быть также применен для решения более широкого круга аналитических задач, связанных с определением качества пищевых продуктов, экспертизой многокомпонентных природных и синтетических объектов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Выбор условий проведения газовой экстракции из осушенного лекарственного растительного сырья (цветки, трава, плоды), при которых происходит наиболее полное выделение летучих и среднелетучих органических соединений, достигается равновесный состав паровой фазы с характерным для данного растения относительным содержанием компонентов, что позволяет получить специфический газохроматографический профиль ЛРС в условиях парофазного анализа.

2. Результаты идентификации и количественного определения основных и сопутствующих компонентов в равновесной паровой фазе пижмы обыкновенной,

календулы лекарственной, боярышника кроваво-красного и зверобоя продырявленного, полученные методами ПФА-ГХ-МС и ПФА-ГХ-ПВД.

3. Способ обработки данных по качественному и количественному составу равновесной паровой фазы в виде headspace-спектров «относительная площадь пика – индекс удерживания» как характеристика индивидуальности и подлинности ЛРС.

4. Результаты хемометрической обработки данных парофазного анализа, позволяющие установить видовое различие, фирму-производителя, партию ЛРС.

5. Результаты апробации подхода, основанного на обнаружении методом ПФА совокупности летучих и среднелетучих органических соединений в фитопрепаратах с различной лекарственной формой для установления их подлинности.

Личный вклад автора заключается в экспериментальном исследовании паровой фазы лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов 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, обсуждении результатов, подготовке публикаций.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности приведенных в диссертации результатов подтверждается их сходимостью и воспроизводимостью, согласованностью результатов, полученных при использовании нескольких независимых методов исследования, а также сравнением полученных экспериментальных данных с литературными. Основные результаты работы представлены на XIV конференции «Физико-химические основы ионообменных и хроматографических процессов» (ИОНИТЫ-2014) (Воронеж, 2014), «Теория и практика хроматографии» (Самара, 2015), научно-практической конференции с международным участием «Молодые учёные XXI века - от идеи к практике», посвященной 85-летию Клиник СамГМУ (Самара, 2015), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновационные технологии в Фармации» (Иркутск, 2016), XIX Всероссийская конференция молодых ученых-химиков (Нижний Новгород, 2016), Международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные исследования в области химии и экологии» (Курск, 2016), V Всероссийском симпозиуме с международным участием «Кинетика и динамика обменных процессов», (Сочи, 2016), III Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (Краснодар, 2017), третьем съезде аналитиков России (Москва, 2017).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 14 тезисов докладов, защищено 3 патента РФ.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части и четырех глав, в которых изложены результаты проведенных исследований и их обсуждение, выводов, списка цитируемой литературы (142 наименования). Материалы диссертации изложены на 174 страницах текста, включая 24 таблицы, 44 рисунка.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** дано обоснование актуальности темы диссертации, сформулированы ее цели и задачи, представлены научная новизна и практическая значимость.

В **первой главе** (обзоре литературы) представлена информация о веществах, участвующих в процессах обмена веществ лекарственных растений – первичных и вторичных метаболитах. Приведена классификация лекарственных растений по природе основной действующей группы БАС. Особое внимание уделено современному состоянию исследований по изучению состава летучих БАС в исследуемых объектах. Рассмотрены

статические и динамические варианты метода ПФА-ГХ и его возможности для определения состава летучих компонентов в ЛРС.

Во второй главе описаны объекты исследования, методики пробоподготовки и парофазного газохроматографического анализа. Объектами исследования являлись ботанические (Ботанический сад Самарского университета) и промышленные образцы осушенного лекарственного сырья (цветки пижмы, цветки календулы, плоды боярышника и трава зверобоя), а также фитопрепараты в виде твердых и жидких лекарственных форм на основе данных видов ЛРС.

В варианте ПФА-ГХ-ПВД использовали газовый хроматограф «Кристалл-5000.2» (Йошкар-Ола, Россия) и кварцевую капиллярную колонку с малополярной 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксановой неподвижной фазой Rtx-5 (30м×0.32мм, $d_f = 0.25$ мкм) фирмы Restek (США) В варианте ПФА-ГХ-МС применяли газовый хроматограф Agilent 7890 GC (США), совмещенный с масс-спектрометрическим детектором 5975С с электронной ионизацией. Использовали капиллярную колонку HP-5ms (30м×0.32мм, $d_f = 0.25$ мкм) с аналогичной малополярной неподвижной фазой. В обоих вариантах применяли одинаковый режим хроматографирования: 40°C в течение 2 минут, далее – линейное программирование температуры со скоростью 4 град/мин до температуры 180°C. Данный режим рекомендуется применять для газохроматографического анализа эфирных масел. Результаты эксперимента обрабатывали с использованием программного обеспечения Хроматэк-Аналитик 3.0 (ПФА-ГХ-ПВД) и AgilentChemStation (ПФА-ГХ-МС).

По результатам ПФА-ГХ экспериментов рассчитывали: индексы удерживания Ван-ден-Доола и Кратса (I_i^T) при линейном программировании температуры колонки и относительные площади пиков $A_{r,i}$ (%) методом внутренней нормализации. Установлено, что для компонентов, элюирующихся на начальных участках (температурах) хроматограммы, точность определения I_i^T составляет ± 2 ед. инд. и уменьшается до ± 1 ед. инд. с ростом температуры элюирования. Погрешность определения относительных площадей пиков $A_{r,i}$ также уменьшается с увеличением времени и, соответственно, температуры выхода компонента из колонки от 10% до 1%.

Компоненты паровой фазы идентифицировали с использованием масс-спектральных характеристик, а также на основании сопоставления экспериментально полученных индексов удерживания при линейном программировании температуры с литературными данными по величинам I_i^T эфирных масел исследуемых растений, а также со значениями из атласа масс-спектров эфирных масел и базы данных NIST, полученными на капиллярных колонках с 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксановой стационарной фазой. Оценку правильности идентификации также осуществляли на основании анализа корреляционных зависимостей «индекс удерживания – температура кипения».

В главах 3 – 6 приведены результаты ПФА-ГХ определения летучих компонентов ЛРС и фитопрепаратов на их основе. Выбор объектов исследования был обусловлен тем, что они широко представлены на отечественном и зарубежном фармацевтических рынках и представляют как эфиромасличные растения (пижма), действующие БАС которых являются летучими веществами, так и другие типы лекарственных растений, фармацевтическое действие которых связано с малолетучими БАС разных классов.

Для каждого из растений предварительно были изучены закономерности газовой экстракции из осушенных образцов ЛРС. Газовую экстракцию летучих компонентов осуществляли в интервале температур 30 – 140°C, варьируя время экстракции от 5 до 60 мин. В качестве проб использовали осушенные образцы ЛРС массой 3 г, растертые в порошок таблетки массой 3 г (трава, цветки, плоды), жидкий экстракт или эфирное масло объемом 1 см³. Пробы помещали в герметичный стеклянный флакон емк. 10 мл, который устанавливали в металлический контейнер, находящийся в термостате и выдерживали при заданных условиях газовой экстракции (температурах и

продолжительности экстракции). По окончании процесса газовой экстракции нагретым стеклянным шприцем отбирали газообразную пробу объемом 1 мл и вводили ее в хроматограф с делением потока 1 : 50.

Увеличение температуры газовой экстракции приводит к закономерному увеличению числа выделившихся в паровую фазу летучих компонентов (n), как это показано на рисунке 1а для пижмы, причем наибольший рост n наблюдается в интервале температур 30 – 80°C.

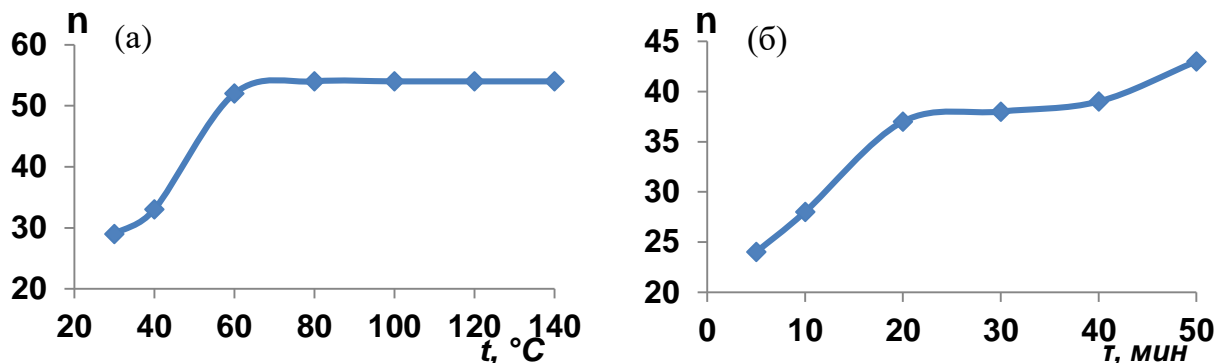


Рисунок 1 – Зависимости числа пиков (n) летучих компонентов паровой фазы от температуры (а) и времени (б) газовой экстракции: а – пижма, время экстракции 30 мин; б – зверобой, температура экстракции 80°C

При всех исследованных температурах для всех ЛРС число пиков ЛОС на хроматограмме в наибольшей степени увеличивается в первые 20 мин (рисунок 1б). Для получения информативного хроматографического профиля летучих компонентов необходимо было установить для каждого растения тот интервал температур газовой экстракции, в котором относительное содержание компонентов изменяется мало. Для этого изучали зависимость от температуры отношения абсолютной площади менее летучего компонента (A_i) к аналогичной величине для более летучего компонента (A_{st}), выбранного в качестве стандарта. Например, для зверобоя в качестве такого стандарта был взят 2-метилпропаналь ($I_{st}^T=556$), который присутствует в паровой фазе уже при температуре 30°C. На примере среднелетучего компонента 2-метил-3-бутен-2-ола ($I_i^T=617$) и других менее летучих компонентов установлено, что зависимость (A_i/A_{st}) от температуры газовой экстракции имеет максимум при температуре 60°C (рисунок 2, крив. 1).

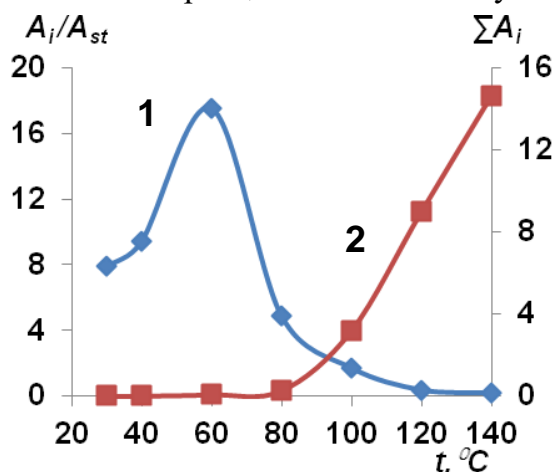


Рисунок 2 – Зависимости отношения абсолютных площадей пиков 2-метил-3-бутен-2-ола и 2-метилпропаналя (A_i/A_{st}) (кривая 1) и суммы абсолютных площадей пиков всех компонентов (ΣA_i) от температуры газовой экстракции (кривая 2); время экстракции 40 мин.

По-видимому, максимум обусловлен различием в температурных зависимостях констант десорбционного перераспределения i -го компонента и стандартного соединения и влиянием резкого повышения (при $t > 80^\circ\text{C}$) суммарной концентрации всех компонентов ΣA_i

(рисунок 2, кривая 2). Анализ зависимости A_i/A_{st} (рисунок 2, кривая 1) показывает, что данная величина меньше всего изменяется в интервале температур 80-140°C, несмотря на резкое увеличение ΣA_i . Это свидетельствует о том, что при температурах газовой экстракции 80-140°C относительное содержание компонентов изменяется мало и возможно получение информативного хроматографического профиля, характеризующего качественный и количественный состав РПФ зверобоя. Близкие

результаты были получены при исследовании закономерностей газовой экстракции ЛОС из осушенных образцов других исследованных растений. Следует также отметить, что ЛОС всех исследованных растений устойчивы в интервале температур 30-140°C и не подвержены химическим превращениям в присутствии воздуха, находящегося в сосуде для экстракции. Об этом свидетельствует тот экспериментальный факт, что пики всех выделившихся в газовую фазу компонентов при увеличении температуры газовой экстракции от 30 до 140°C сохраняются на хроматограмме, а площади пиков увеличиваются.

Дальнейшие исследования образцов ЛРС (цветки, трава, плоды) методом ПФА-ГХ осуществлялись в интервале температур 80 – 100°C при времени газовой экстракции 30 – 40 мин. Эти условия можно считать оптимальными, так как при этом достигается равновесный состав паровой фазы без химических превращений компонентов с их устойчивым относительным содержанием в РПФ. Следовательно, с использованием этих условий газовой экстракции может быть получен информативный хроматографический профиль ЛОС исследуемых растений.

В третьей главе представлены результаты ПФА-ГХ исследования ботанического и шести промышленных образцов ЛРС «пижма обыкновенная», а также фитопрепаратов – эфирного масла и таблетированной формы сухого экстракта пижмы «Танацехол» (ВИЛАР, г. Москва). Пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare* L.) – многолетнее травянистое растение семейства Астровые. Соцветия пижмы обладают бактерицидными, ранозаживляющими, антигельминтными, желчегонными, противовоспалительными свойствами, а также спазмолитическим действием. Хроматограмма ботанического образца цветков пижмы, полученная методом ПФА-ГХ-ПВД (температура газовой экстракции 100°C, время экстракции 40 мин), представлена на рисунке 3.

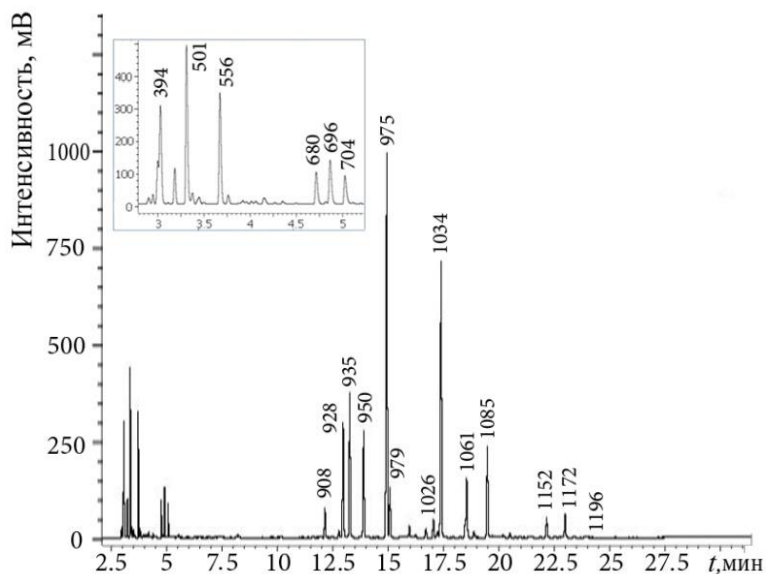


Рисунок 3 – Хроматограмма летучих компонентов равновесной паровой фазы цветков пижмы обыкновенной (ботанический образец), полученная в условиях ПФА-ГХ-ПВД.

Аналогичная хроматограмма получена в условиях ПФА-ГХ-МС. В РПФ пижмы обнаружено 54 летучих компонента с временами удерживания t_R от 2.94 до 23.90 мин и в интервале индексов удерживания $I_i^T = 359 - 1196$. Идентифицировано 52 компонента

из 54, которые представлены в диссертационной работе. Они относятся к терпенам (α -туйен, α -пинен, β -пинен, камфен), терпеноидам (эвкалиптол, камфора), предельным углеводородам (2-метилгептан, 2-метилоктан, *n*-нонан), непредельным углеводородам (3-метилбутен, пентадиен-1,4), альдегидам (пропаналь, 2-метилбутаналь), простым эфирам (метоксиэтан, 1,1-диэтоксиэтан) и другим классам органических соединений.

Близкий вид имеют хроматограммы газовых экстрактов промышленных образцов пижмы, произведенных в разных регионах России. Они также содержат 54 пика летучих компонентов, однако имеет место различие в количественном составе РПФ. Так, например, доминирующим компонентом, то есть компонентом с максимальным содержанием в паровой фазе, для ботанического образца (№1) является β -пинен ($A_{r,i} = 22.73\%$). Эвкалиптол является доминирующим компонентом в образцах №2 (Краногорсклексредства), №4 (Фитофарм) и №6 (Иван-чай), α -пинен – в образце №3

(Травы Алтая), сабинен – в образце №5 (Камелия-ЛТ). В образце №7 (ВИЛАР) содержание сабинена и α -пинена в равновесной паровой фазе практически одинаково ($A_{r,i} \approx 20\%$).

При анализе полученных хроматограмм было установлено, что основной вклад в общий хроматографический профиль РПФ цветков пижмы вносят 15 компонентов, относительное содержание которых в паровой фазе $A_{r,i} \geq 1\%$. Эти *основные* летучие компоненты представлены в таблице 2. В список основных компонентов включен 3-туйен-2-он ($I_i^T=1172$), являющийся, согласно литературным данным, специфическим маркером пижмы. Среднее содержание этого вещества в семи исследованных образцах составляет $A_{r,i} = 0.97\%$.

Таблица 2 – Индексы удерживания I_i^T основных летучих компонентов и их относительное содержание $A_{r,i}$, % в равновесной паровой фазе лекарственного растения «пижма обыкновенная»

I_i^T	Соединение*	$A_{r,i}$, %**						
		1	2	3	4	5	6	7
394	Этаналь ^{а,г}	3.96	8.46	11.72	5.16	5.60	6.74	3.02
501	Пропаналь ^{а,г}	4.79	7.98	6.42	3.81	2.42	2.81	1.95
556	2-Метилпропаналь ^{а,г}	3.32	8.19	12.64	3.95	5.26	5.48	1.92
680	3-Метилбутаналь ^{а,г}	1.15	3.82	5.76	1.39	1.94	2.33	0.72
696	2-Метилбутаналь ^{а,г}	1.67	4.13	7.36	1.74	3.63	3.03	0.98
928	α -Туйен ^{а,б,в,г}	6.44	3.67	1.45	1.44	1.71	4.72	5.14
935	α -Пинен ^{а,б,в,г}	9.04	6.65	15.25	5.27	18.19	13.47	20.38
950	Сабинен ^{а,б,в,г}	8.26	6.43	4.44	4.81	21.57	7.55	20.47
975	β -Пинен ^{а,б,в,г}	22.73	7.03	1.84	2.34	1.16	7.73	9.37
979	Октаналь ^{б,в,г}	3.04	2.14	2.38	1.62	3.02	3.22	4.94
1026	<i>n</i> -Цимен ^{а,б,в,г}	1.84	2.90	0.84	1.68	1.70	2.11	1.30
1034	Эвкалиптол ^{а,б,в,г}	16.39	11.75	7.79	13.60	4.91	16.86	15.59
1061	Артемизия кетон ^{а,б,в,г}	3.25	6.51	0.39	1.01	0.24	3.01	2.01
1152	Камфора ^{а,б,в,г}	1.62	4.83	8.42	2.94	7.69	6.30	6.61
1172	3-Туйен-2-он ^{б,в,г}	0.76	1.15	0.36	0.17	3.32	0.80	0.27

Примечание – *идентификацию проводили с использованием: (а) хромато-масс-спектрометрического анализ, (б) литературные данные по экстрактам и эфирным маслам растения, (в) атлас масс-спектров эфирных масел, (г) база данных NIST.

**Образцы: 1 – Ботанический сад, 2 – Красногорск, 3 – Травы Алтая, 4 – Фитофарм, 5 – Камелия-ЛТ, 6 – Иван-чай, 7 – ВИЛАР.

Чтобы подтвердить правильность идентификации компонентов в РПФ и установить интервал их температур кипения была изучена зависимость «индекс удерживания I_i^T – температура кипения T_b », рисунок 4.

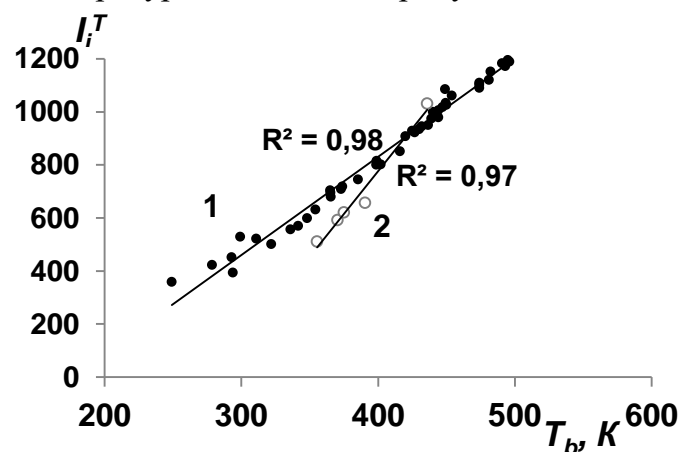


Рисунок 4 – Зависимость индекса удерживания (I_i^T) компонентов РПФ пижмы обыкновенной от температуры кипения (T_b , К): 1 – все компоненты РПФ, кроме спиртов, 2 – спирты

Для идентифицированных соединений наблюдаются удовлетворительные линейные зависимости I_i^T от T_b , причем зависимость для короткоцепочечных спиртов (линия 2) расположена ниже зависимости для всех остальных соединений (линия 1).

Расположение линии 2 для спиртов связано, очевидно, с их меньшим взаимодействием с малополярной 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксановой

неподвижной фазой. Найденному диапазону индексов удерживания I_i^T соответствует диапазон температур кипения $T_b = 249 - 495$ К. Литературные данные по ГХ-МС анализу жидких (разбавленных) проб эфирного масла пижмы содержат компоненты в интервале индексов удерживания $I_i^T = 908 - 1655$ ед. индекса, что отличается от интервала, полученного нами в условиях ПФА-ГХ. Поэтому важно было сопоставить хроматограммы эфирного масла, полученные предлагаемым методом ПФА-ГХ и традиционным способом (ввод в колонку жидких проб). Эфирное масло пижмы получали перегонкой с водяным паром из ботанического образца. Хроматограмма эфирного масла, полученная предлагаемым методом ПФА-ГХ-ПИД, представлена на рисунке 5.

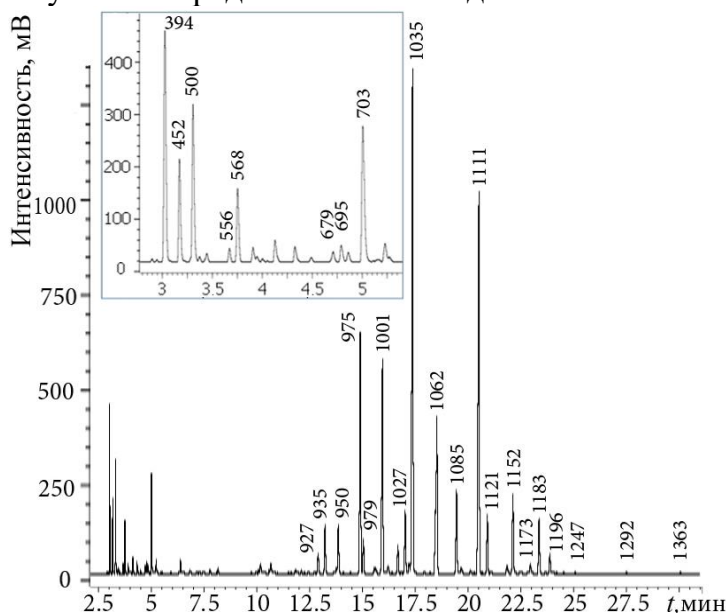


Рисунок 5 – Хроматограмма летучих компонентов равновесной паровой фазы эфирного масла пижмы обыкновенной (ПФА-ГХ-ПИД).

Headspace-хроматограмма эфирного масла близка по виду хроматограмме паровой фазы ЛРС пижмы (рисунок 5). Она содержит 101 компонент с индексами удерживания $I_i^T = 359 - 1631$ ед. индекса. 52 компонента РПФ эфирного масла совпадают с компонентами ЛРС, в том числе маркер 3-туйен-2-он. На хроматограмме четко выражены начальный участок с хорошо разделенными наиболее

летучими компонентами и участок со среднелетучими компонентами пижмы ($I_i^T = 927 - 1196$ ед. индекса). Содержание малолетучих компонентов ($1196 < I_i^T \leq 1631$ ед. индекса) в РПФ эфирного масла понижено. Хроматограмма эфирного масла пижмы, полученная традиционным способом с использованием жидкой пробы (растворитель *n*-пентан), содержит большой пик *n*-пентана на начальном участке, что привело к плохому разделению и потере ряда наиболее летучих компонентов, присутствующих на headspace-хроматограмме масла и ЛРС. Диапазон надежно определенных ЛОС при ГХ анализе жидкой пробы эфирного масла пижмы составил $I_i^T = 851 - 1621$ ед. индекса, что соответствует температурам кипения $T_b = 420 - 580$ К. Таким образом, ГХ хроматограмма эфирного масла, полученная вводом жидкой пробы содержит набор средне- и малолетучих соединений, тогда как ПФА-ГХ headspace-хроматограммы как эфирного масла, так и ЛРС отражают наличие в РПФ легколетучих и среднелетучих компонентов.

Для установления подлинности и стандартизации ЛРС целесообразно использовать не хроматограммы, а диаграммы типа «относительная площадь пика – индекс удерживания» (headspace-спектры), которые дают информацию о качественном (I_i^T) и количественном ($A_{r,i}$) составах паровой фазы ЛРС. На рисунке 6 представлены такие диаграммы для двух образцов ЛРС пижмы производства «Красногорсклексредства» и «Иван-чай».

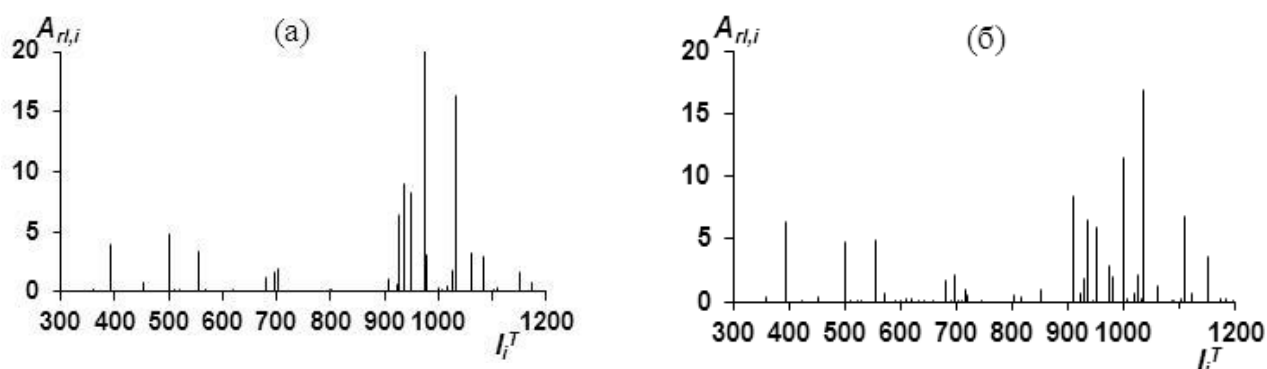


Рисунок 6 – Диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» (headspace-спектры) летучих компонентов ЛРС пижмы обыкновенной: а – Красногорск, б – Фитофарм.

Headspace-спектры всех образцов пижмы похожи, различаясь лишь интенсивностью сигналов детектора. Несмотря на то, что равновесная паровая фаза пижмы содержит не слишком специфические вещества, хроматографический спектр ее летучих компонентов отличается от спектров других лекарственных растений. Для установления тонких отличий в количественных характеристиках РПФ пижмы проводили хемометрическую обработку результатов парофазного анализа. Обработка данных методом главных компонент продемонстрировала четкую группировку хроматографических данных по образцам ЛРС разных производителей (рисунок 7).

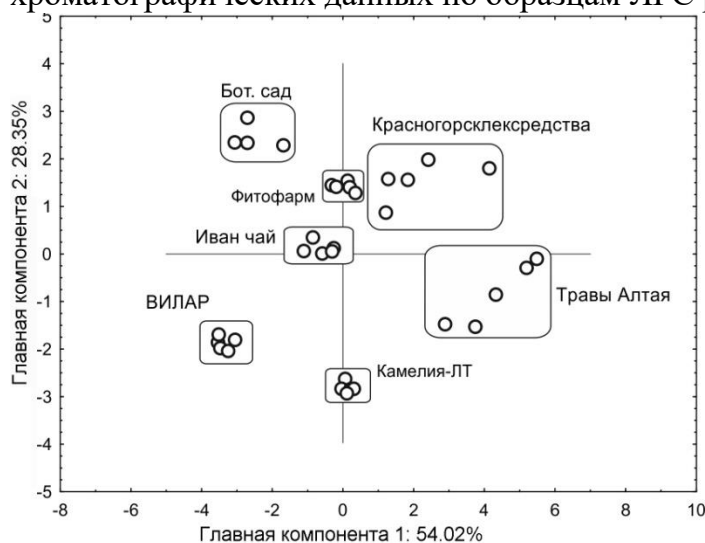


Рисунок 7 – Результаты парофазного анализа «пижмы обыкновенной» в координатах главных компонент 1 и 2.

В РПФ препарата «Танацехол» (таблетированная измельченная форма сухого экстракта пижмы) обнаружено 74 компонента, причем 46 из них присутствуют в РПФ цветков пижмы, а остальные – в РПФ эфирного масла. Относительное содержание большинства компонентов в паровой фазе препарата понижено в связи с большим содержанием этанола

($A_{rl,i} = 69.22\%$), который, по-видимому, использовали в качестве экстрагента биологически активных соединений из пижмы. Подлинность фитопрепарата подтверждается еще и тем, что все 15 основных компонентов российской пижмы, в том числе маркер 3-туйен-2-он, присутствуют в РПФ «Танацехола».

В четвертой главе описаны результаты исследования паровой фазы ботанического и четырех промышленных образцов ЛРС календулы лекарственной, а также фитопрепаратов – спиртового и масляного экстрактов («Лекус», Москва). Календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.) применяется в медицинской практике в качестве ранозаживляющего, противовоспалительного, бактерицидного средства в виде отваров, настоек, экстрактов и масел, входит в состав травяных сборов. На ПФА-ГХ хроматограммах РПФ цветков календулы зарегистрировано 28 летучих компонентов с временами удерживания t_R от 2.93 до 17.38 мин и величинами индексов удерживания I_i^T от 359 до 1035 ед. индекса. Обращает на себя внимание наличие большого числа близкорасположенных пиков легколетучих соединений на начальном участке хроматограммы с индексами удерживания $I_i^T = 359 - 717$. Доминирующим компонентом

паровой фазы всех исследованных образцов ЛРС календулы является 2-метилпропаналь ($I_i^T = 556$, $A_{rl,i} = 25.76 - 35.36\%$). Девять основных компонентов, относящихся преимущественно к классу альдегидов, представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Индексы удерживания I_i^T основных компонентов и их относительное содержание $A_{rl,i}$, % в равновесной паровой фазе лекарственного растения «календула лекарственная»

I_i^T	Соединение*	$A_{rl,i}$, % **				
		1	2	3	4	5
378	–	2.15	4.40	5.74	6.46	7.25
394	Этаналь ^{а,г}	22.47	16.64	14.56	14.62	14.94
448	Этанол ^{а,г}	0.10	1.66	0.73	1.17	0.48
501	Пропаналь ^{а,г}	6.37	5.67	5.62	6.24	6.25
520	Диметилсульфид ^{а,г}	2.45	13.70	1.00	0.43	0.55
556	2-Метилпропаналь ^{а,г}	25.76	26.25	35.36	31.57	29.34
679	3-Метилбутаналь ^{а,г}	9.08	12.85	15.67	14.54	16.69
695	2-Метилбутаналь ^а	13.83	15.09	18.55	20.76	19.05
802	Гексаналь ^{б,г}	4.93	0.81	0.51	0.89	1.84

Примечание: – *см. примечание в таблице 1, «–» – компоненты не идентифицированы.

**Образцы: 1 – Ботанический сад, 2 – Красногорск, 3 – Фитофарм, 4 – Фармпродукт, 5 – ZamonaRano.

Диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» для ботанического и промышленных образцов календулы близки друг другу и наглядно отражают относительное содержание основных компонентов.

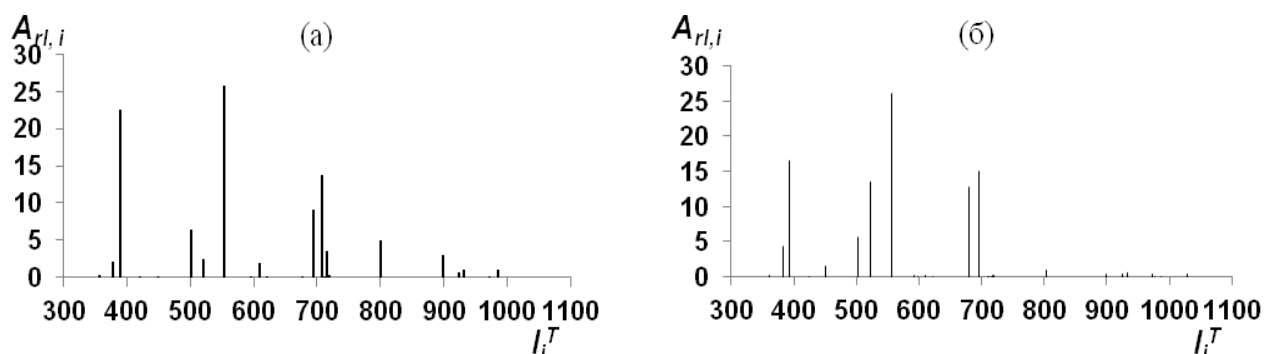


Рисунок 8 – Диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» (headspace-спектры) ЛРС «календула лекарственная»: а – ботанический образец, б – Красногорсклексредства.

Хроматограмма паровой фазы спиртового (70%) экстракта календулы содержит большой пик этанола ($I_i^T = 448$, $A_{rl,i} = 99.6\%$) и 25 остальных компонентов с небольшим относительным содержанием компонентов ($A_{rl,i} = 0.1469 - 0.0002\%$). Девятнадцать компонентов паровой фазы спиртового экстракта совпадает с компонентами ЛРС. Если при расчете $A_{rl,i}$ не учитывать пик этанола, то к основным компонентам РПФ спиртового экстракта можно отнести этаналь, пропаналь, диметилсульфид, 2-метилпропаналь, 3-метилбутаналь, 2-метилбутаналь, гексаналь, α -пинен. За исключением α -пинена все они являются основными компонентами паровой фазы ЛРС «календула лекарственная».

Хроматограмма паровой фазы косметического масляного экстракта календулы содержит 20 летучих компонентов в интервале индексов удерживания $I_i^T = 359 - 1035$, причем 17 из них совпадают с компонентами паровой фазы ЛРС. Доминирующим компонентом является этанол ($A_{rl,i} = 30\%$), который, очевидно, использовался при экстракции БАС из сырья.

В пятой главе приведены экспериментальные данные парового анализа плодов ЛРС «боярышник кроваво-красный» (ботанического и двух промышленных образцов), а также фитопрепаратов: «Боярышника настойка» («Кировская фармацевтическая фабрика»), капсулы «Боярышник Премиум» («Фарм-про»), и «Боярышник Форте» («Парафарм»), таблетки на основе сухого экстракта плодов «Кардиоактив боярышник» («Эвалар»), «Боярышник. Таблетки для рассасывания» («NaturProdukt»).

Хроматограмма паровой фазы ботанического образца боярышника приведена на рисунке 9.

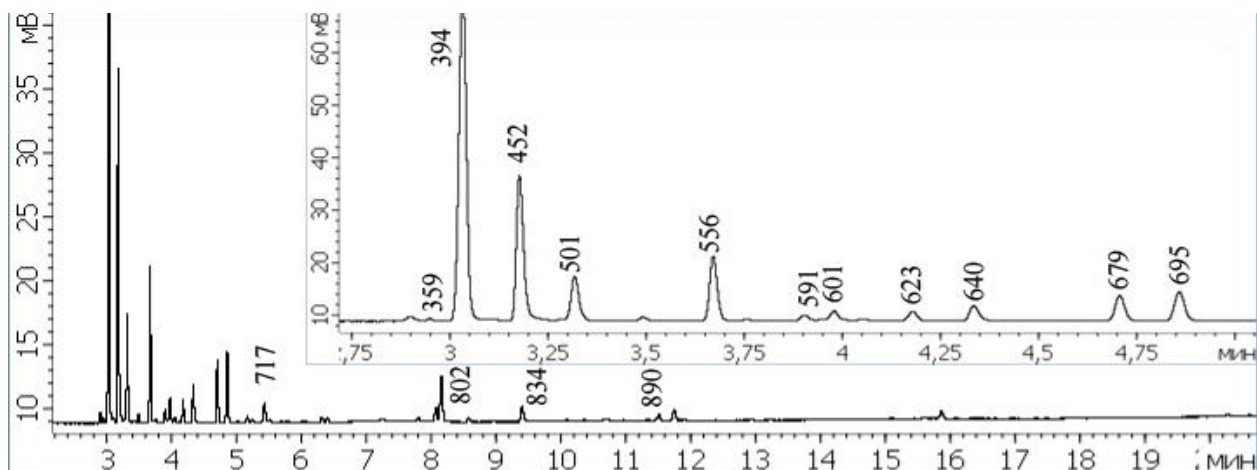


Рисунок 9 – Хроматограмма летучих компонентов равновесной паровой фазы плодов боярышника (ботанический образец).

На хроматограмме зарегистрирован 31 летучий компонент с временами удерживания t_R от 2.95 до 19.33 мин и индексами удерживания в интервале $I_i^T = 360 - 1080$. Идентифицировано 30 компонентов из 31. Температуры кипения идентифицированных компонентов находятся в интервале $T_b = 249 - 495$ К. Доминирующим компонентом как в ботаническом, так и в двух промышленных образцах является этаналь ($I_i^T = 392$, $A_{r,i} = 35 - 55\%$). Десять компонентов с $A_{r,i} \geq 1\%$ являются основными компонентами РПФ боярышника кроваво-красного (таблица 3).

Таблица 3 – Индексы удерживания I_i^T основных компонентов и их относительное содержание $A_{r,i}$, % в равновесной паровой фазе лекарственного растения «боярышник кроваво-красный».

I_i^T	Соединение*	Промышленные образцы $A_{r,i}$, %		Ботанический сад $A_{r,i}$, %
		Фитофарм	Красногорск	
392	Этаналь ^{а,г}	55.55	35.34	41.03
451	3-Метилбутен-1 ^{а,г}	8.89	19.10	17.32
502	Диметилсульфид ^{а,г}	5.76	9.56	5.77
556	2-Метилпропаналь ^{а,г}	3.32	5.90	7.98
591	Пропанол ^{б,в,г}	1.79	2.00	0.64
679	3-Метилбутаналь ^{а,г}	3.69	7.68	3.98
695	2-Метилбутаналь ^{а,г}	2.42	4.19	4.74
717	Этилпропионат ^г	1.98	1.10	1.52
802	Гексаналь ^{а,б,в,г}	7.21	4.14	4.47
835	Изовалериановая кислота ^{б,в,г}	0.76	3.07	1.72

Примечание: – * см. примечание к таблице 1.

Хроматографические (headspace) профили ЛОС плодов боярышника имеют характерный вид (рисунок 10).

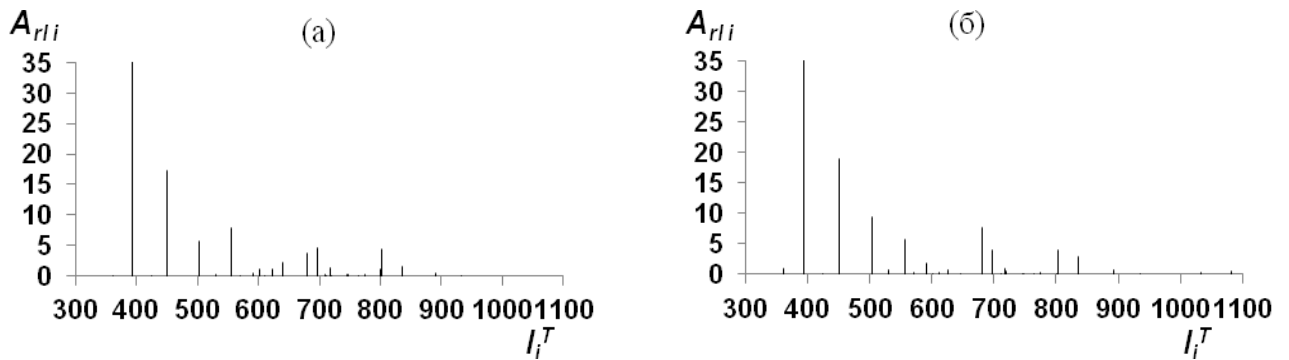


Рисунок 10 – Диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» (headspace-спектры) ЛРС «боярышник кроваво-красный»: а – ботанический образец, б – Красногорсклексредства.

Хроматограмма настойки боярышника, полученная методом ПФА-ГХ, содержит большой асимметричный пик этанола, который плохо разделен с соседними пиками легколетучих компонентов. Фрагмент этой хроматограммы представлен на рисунке 11.

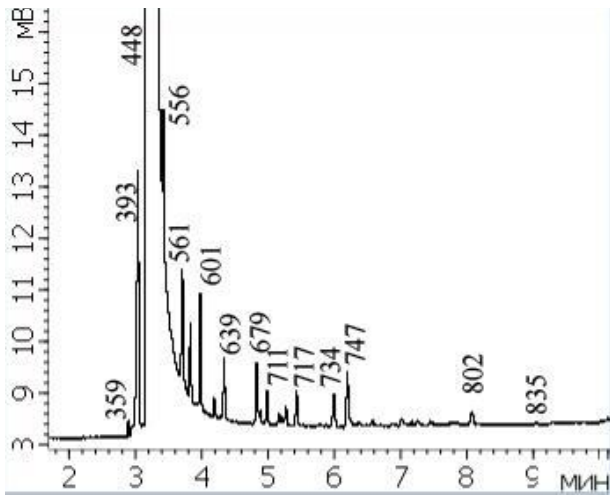


Рисунок 11 – Фрагмент хроматограммы легколетучих компонентов равновесной паровой фазы настойки боярышника.

Несмотря на наличие большого пика этанола ($I_i^T = 448$) программа обработки ГХ данных «Хроматэк Аналитик 3.0» зафиксировала на общей хроматограмме 28 компонентов (включая этанол) с временами удерживания $t_r = 2.95 - 17.26$ мин в интервале индексов удерживания $I_i^T = 359 - 1031$. Из 28 зарегистрированных летучих компонентов фитопрепарата 15 совпадают с компонентами паровой фазы плодов боярышника кроваво-красного. Семь компонентов паровой фазы спиртовой настойки совпадают с основными компонентами паровой фазы боярышника: этаналь, 2-метилпропаналь, 3-метилбутаналь, 2-метилбутаналь, этилпропионат, гексаналь, изовалериановая кислота. Таким образом, совокупность присущих плодам боярышника основных ЛОС и отсутствие на хроматограмме паровой фазы настойки пика метанола может свидетельствовать о подлинности и качестве данного фитопрепарата.

На рисунке 12 представлена хроматограмма летучих компонентов твердого содержимого капсул «Боярышник Форте».

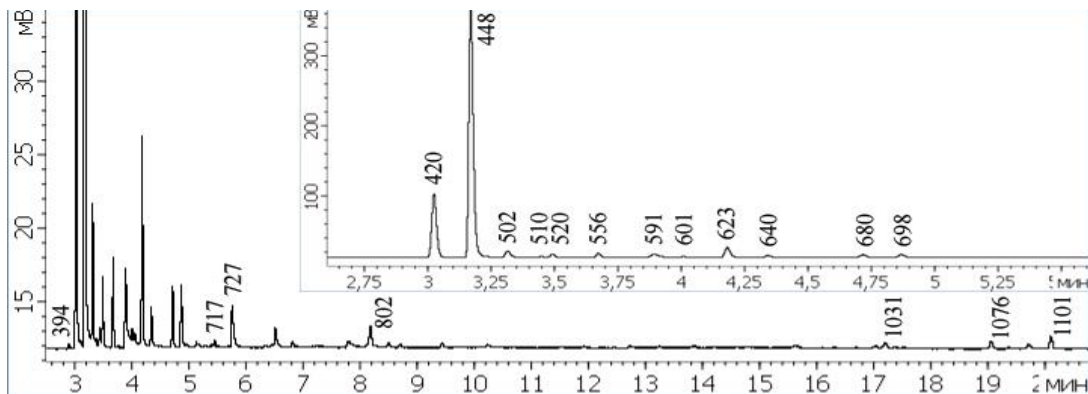


Рисунок 12 – Результаты парофазного анализа сухого экстракта плодов боярышника (капсулированный препарат «Боярышник Форте»).

На хроматограмме зарегистрировано 38 пиков в интервале индексов удерживания $I_i^T = 357 - 1101$. Обращает на себя внимание повышение содержания компонента с индексом удерживания $I_i^T = 451$ ед. индекса, идентифицированного нами как 3-метилбутен-1. В паровой фазе ЛРС боярышника площадь пика этого компонента составила 8.89% (таблица 3), тогда как в паровой фазе «Боярышник Форте» его площадь увеличилась до 65.91%. Есть основания полагать, что пик данного компонента перекрыт высоким пиком растворителя – этанола ($I_i^T = 448$), который часто применяется при производстве фитопрепаратов. Все основные десять компонентов ЛРС плодов боярышника (таблица 3) присутствуют в паровой фазе твердого содержимого капсул «Боярышник Форте». Близкие результаты получены и для других исследованных таблетированных и капсулированных форм боярышника, которые представлены в диссертационной работе.

В **шестой главе** показаны результаты ПФА-ГХ исследования двух фармакопейных видов зверобоя – «зверобой продырявленный», «зверобой четырехгранный», трех промышленных образцов зверобоя, а также фитопрепаратов – масляного экстракта (косметическое масло производства «Лекус», г. Москва) и таблетированного сухого экстракта зверобоя «Деприм» производства «Sandoz» (Словения). Лекарственное растение «зверобой продырявленный» (*Hypericum perforatum* L.), а также препараты на его основе давно применяются в медицинской практике в качестве противовоспалительных, ранозаживляющих, бактерицидных, желчегонных и вяжущих средств. В последнее время зверобой привлекает к себе внимание своими антидепрессантными и седативными свойствами.

Хроматограмма ботанического образца зверобоя продырявленного, полученная методами ПФА-ГХ-ДИП и ПФА-ГХ-МС в оптимизированных условиях газовой экстракции, имеет вид, представленный на рисунке 13. На хроматограмме зарегистрировано 39 летучих компонентов с временами удерживания от 2.95 мин до 19.98 мин и рассчитанными индексами удерживания от $I_i^T=360$ до $I_i^T=1099$ ед. индекса, что соответствует диапазону температур кипения $T_b = 249 - 468$ К. Близкий вид имели хроматограммы промышленных образцов ЛРС «зверобоя продырявленного», а также «зверобоя четырехгранного», различаясь только по относительному содержанию компонентов.

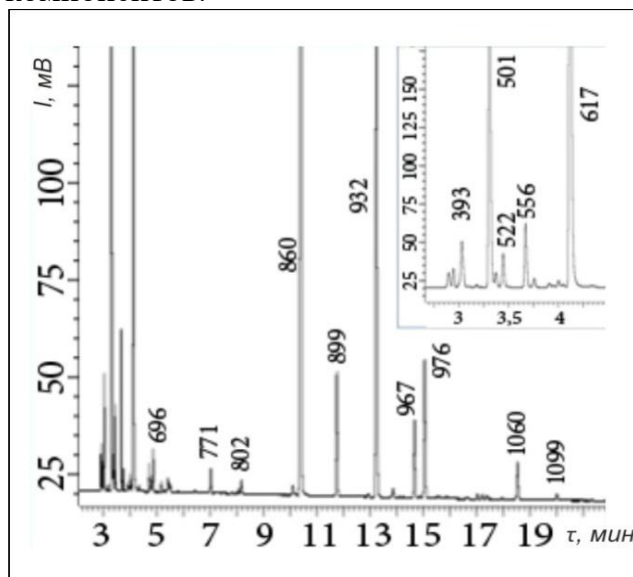


Рисунок 13 – Хроматограмма летучих компонентов образца травы зверобоя продырявленного.

Доминирующим компонентом для ботанического образца «зверобоя продырявленного» является 2-метилоктан ($I_i^T = 860$, $A_{r,i} = 46.50$ %), а для зверобоя четырехгранного – α -пинен ($I_i^T = 932$, $A_{r,i} = 50.64$ %). В случае промышленных образцов зверобоя продырявленного доминирующим компонентом является пропаналь ($I_i^T = 501$, $A_{r,i} = 30 - 34$ %).

Девять основных летучих компонентов двух фармакопейных видов

зверобоя и промышленных образцов зверобоя представлены в таблице 4; большая часть основных компонентов принадлежит классу альдегидов.

Таблица 4 – Индексы удерживания I_i^T основных летучих компонентов и их относительное содержание A_{rli} , % в равновесной паровой фазе лекарственного растения «зверобой продырявленный»

I_i^T	Соединение*	Промышленные образцы, A_{rli} , %			Ботани- ческий сад, A_{rli} , %	Зверобой четырёхгран- ный, A_{rli} , %
		Красно- горск	Здоровье	Иван- чай		
393	Этаналь ^{а, г}	6.27	7.14	7.14	1.09	1.16
501	Пропаналь ^{а, г}	30.41	32.05	34.14	8.91	3.09
522	Диметилсульфид ^{а, г}	2.31	3.37	2.87	0.75	2.72
556	2-метилпропаналь ^{а, г}	5.56	5.53	3.73	1.38	2.21
617	2-метил-3-бутен-2-ол ^{а, б, г}	19.08	20.75	15.53	16.51	0.46
696	2-метилбутаналь ^{а, г}	2.61	2.93	1.52	0.42	1.24
860	2-метилоктан ^{а, б, г}	11.61	6.96	18.85	46.50	11.60
932	α -пинен ^{а, б, в, г}	1.55	0.41	0.94	13.06	50.64
967	3-метилнонан ^{а, б, г}	0.91	0.75	1.29	1.72	3.27

Примечание: * – см. примечание к таблице 1.

Анализ представленных в таблице 4 данных показал, что РПФ зверобоя продырявленного содержит большое количество 2-метил-3-бутен-2-ола ($I_i^T=617$, $A_{rli} = 15-20\%$). Данный компонент идентифицирован нами методом ПФА-ГХ-МС с вероятностью 78%, а также по индексам удерживания с использованием базы данных NIST. Из имеющегося опыта ПФА анализа лекарственных растений и опираясь на ряд зарубежных исследований ЛРС зверобоя, в том числе методом ПФА-ГХ, нами выдвинуто предположение, что компонент 2-метил-3-бутен-2-ол может являться маркером РПФ «зверобоя продырявленного». Этот непредельный спирт согласно литературным данным обладает седативным эффектом, что хорошо согласуется с фармакологическими свойствами «зверобоя продырявленного». Интересно отметить, что в РПФ «зверобоя четырехгранного» 2-метил-3-бутен-2-ол присутствует в меньшем количестве ($A_{rli} = 0.46\%$). Различие в количественном содержании компонентов в РПФ двух видов зверобоев наглядно продемонстрировано в диссертации с использованием хроматической обработки хроматографических характеристик основных летучих компонентов в их газовых экстрактах.

На хроматограмме РПФ препарата «Деприм» зарегистрировано 44 летучих компонента с диапазоном индексов удерживания $I_i^T = 359 - 1099$ ед. индекса. Она содержит большой пик этанола ($A_{rli} = 18.9\%$), который перекрывает часть пиков летучих компонентов ЛРС зверобоя. Кроме того, вследствие использования этанола в качестве экстрагента относительное содержание полярных компонентов в РПФ препарата «Деприм» повышено по сравнению с их содержанием в паровой фазе ЛРС. В паровой фазе масляного экстракта зверобоя обнаружено 27 компонентов в диапазоне индексов удерживания $I_i^T = 359 - 1099$, причем 25 из них присутствует в паровой фазе ЛРС зверобоя. Девять основных компонентов паровой фазы зверобоя с индексами (I_i^T) 393, 501, 522, 556, 617, 696, 860, 932 и 967 присутствуют на хроматограммах РПФ препарата «Деприм» и масляного экстракта. В их число входит и маркер зверобоя 2-метил-3-бутен-2-ол ($I_i^T = 617$), который является доминирующим компонентом РПФ этих фитопрепаратов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что метод парофазного газохроматографического анализа в оптимизированных условиях газовой экстракции позволяет получать специфический и воспроизводимый хроматографический профиль (headspace-спектр) легколетучих и среднетлетучих компонентов растения и фитопрепаратов, что может быть использовано для определения их подлинности. Преимуществами метода являются экспрессность и экономичность, так как отсутствуют трудоемкие стадии получения эфирного масла или экстракта растения, способ

проведения которых влияет на состав газового экстракта. Вспомогательные компоненты, использованные при производстве готовых форм фитопрепаратов, способны изменять относительное содержание компонентов в РПФ, однако их качественный состав изменяется мало.

ВЫВОДЫ

1. Изучены закономерности газовой экстракции и выявлены условия, при которых происходит наиболее полное извлечение летучих и среднелетучих компонентов из растительной матрицы разных видов (цветки, трава, плоды) и формирование характерного хроматографического профиля при парофазном газохроматографическом анализе.
2. Метод парофазного газохроматографического анализа с пламенно-ионизационным и масс-спектрометрическим детектированием применен для определения качественного и количественного состава равновесной паровой фазы ботанических и промышленных образцов лекарственных растений «пижма обыкновенная», «календула лекарственная», «боярышник кроваво-красный», «зверобой продырявленный». В выбранных условиях газовой экстракции равновесная паровая фаза пижмы обыкновенной содержит 54 компонента, календулы – 28, боярышника – 31, зверобоя – 39 компонентов. Проведена идентификация этих компонентов по масс-спектрам и индексам удерживания I_i^T при линейном программировании температуры колонки с 5%-дифенил-95%-диметилполисилоксановой неподвижной фазой.
3. Выявлены основные летучие и среднелетучие компоненты исследованных растений, относительное содержание которых в равновесной паровой фазе $A_{r,i} \geq 1\%$, и предложены специфические маркеры (3-туйен-2-он – маркер пижмы, 2-метил-3-бутен-2-ол – маркер зверобоя), характеризующие индивидуальность и подлинность ЛРС.
4. Обнаружено, что качественный состав равновесной паровой фазы каждого из исследованных растений российского ареала произрастания совпадает, тогда как содержание компонентов несколько различается. Диаграммы «относительная площадь пика – индекс удерживания» (headspace-спектры) позволяют представить общий образ многокомпонентного газового экстракта данного вида лекарственного растительного сырья и установить его индивидуальность и подлинность. Хемометрическая обработка результатов парофазного газохроматографического по методу главных компонент позволяет классифицировать растительное сырье по производителю, месту произрастания и виду.
5. Установлено, что полученные методом парофазного газохроматографического анализа headspace-хроматограммы ЛРС и фитопрепаратов содержат хорошо разделенные пики наиболее летучих компонентов растений с величинами индексов удерживания в усредненном диапазоне $I_i^T = 360 - 850$, что соответствует температурам кипения $T_b = 249 - 420$ К, и не содержат информацию о малолетучих компонентах с $I_i^T > 1200$. Хроматограммы эфирных масел, полученные традиционным вводом жидкой пробы в колонку, содержат среднелетучие и малолетучие компоненты. Спектр среднелетучих компонентов растений с индексами удерживания ($I_i^T = 850 - 1200$ ед. индекса, $T_b = 420 - 495$ К) совпадает на обоих типах хроматограмм.
6. Методом парофазного газохроматографического анализа исследованы фитопрепараты в различных лекарственных формах (спиртовой и масляный экстракты, эфирное масло, таблетированные и капсулированные сухие экстракты). Паровая фаза исследованных фитопрепаратов содержала практически весь headspace-спектр летучих и среднелетучих компонентов, соответствующих данному виду растения.

Основные результаты диссертации изложены в следующих публикациях:

1. Онучак Л.А. Парофазный газохроматографический анализ летучих компонентов пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.) и препаратов на ее основе / Л.А. Онучак, Н.В. Парийчук, Ю.И. Арутюнов, Л.В. Павлова // Журнал аналитической химии. – 2018. – Т. 73, №10. – С. 781-792. Данная статья опубликована в англоязычной версии журнала:

Onuchak, L.A. Headspace Gas Chromatographic Analysis of Common Tansy (*Tanacetum vulgare* L.) and Its Preparations / L.A. Onuchak, N.V. Pariichuk, Yu.I. Arutyunov, L.V. Pavlova // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2018. V. 73, №10. – P. 1003-1013. DOI 10.1134/S1061934818100076

2. **Парийчук Н.В.** Парофазный газохроматографический анализ летучих компонентов лекарственного растения «зверобой продырявленный» (*Hypericum perforatum* L.) и препаратов на его основе / **Н.В. Парийчук**, Л.А. Онучак, Ю.И. Арутюнов, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева // *Аналитика и контроль*. – 2018. – Т. 22, № 2. – С. 177-186. DOI:10.15826/analitika.2018.22.2.008

3. Онучак Л.А. Хроматографические спектры удерживания летучих компонентов равновесной паровой фазы лекарственных растений «эвкалипт прутовидный», «мелисса лекарственная», «софора японская» / Л.А. Онучак, Ю.И. Арутюнов, А.В. Куркина, Е.А. Маскаева, **Н.В. Ермакова (Парийчук)** // *Вестник СамГУ. Естественнонаучная серия*. – 2014. – №10 (121). – С. 133-145.

4. **Ермакова Н.В.** Газохроматографические профили летучих компонентов равновесной паровой фазы лекарственных растений «календула лекарственная», «зверобой продырявленный», «пижма обыкновенная» / **Н.В. Ермакова (Парийчук)**, Ю.И. Арутюнов, Л.А. Онучак, П.В. Афанасьева, А.В. Куркина // *Сорбционные и хроматографические процессы* – 2016. – Т. 16, Вып. 1. – С. 17-28.

5. Пат. 2582847 Российская Федерация. Способ определения подлинности лекарственного растительного сырья. / Арутюнов Ю.И., Онучак Л.А., Афанасьева П.В., **Ермакова (Парийчук) Н.В.**, Куркина А.В.; заявитель и патентообладатель Самарский государственный аэрокосмический университет – № 2014151104/28, заявл. 16.12.2014, опубл. 27.04.2016. Бюл. №12. – 12 с.

6. Пат. 2582621 Российская Федерация. Способ оценки подлинности лекарственного растительного сырья. / Онучак Л.А., Арутюнов Ю.И., Кудряшов С.Ю., Кураева Ю.Г., Копытин К.А., Михайлов И.Ю., **Ермакова (Парийчук) Н.В.**, Михайлов Ю.И.; заявитель и патентообладатель Самарский государственный аэрокосмический университет – № 2014150580/28, заявл. 12.12.2014, опубл. 27.04.2016. Бюл. №12. – 10 с.

7. Пат. 2619044 Российская Федерация. Способ подготовки пробы лекарственного растительного сырья для парофазного анализа. Арутюнов Ю.И., Онучак Л.А., Копытин К.А., **Ермакова (Парийчук) Н.В.**; заявитель и патентообладатель Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева – № 2016108736, заявл. 10.03.2016, опубл. 11.05.2017. Бюл. № 14. – 12 с.

8. Онучак Л.А. Газохроматографические спектры летучих компонентов лекарственного растения календула и фитопрепаратов на его основе / Л.А. Онучак, Ю.И. Арутюнов, К.А. Копытин, **Н.В. (Парийчук) Ермакова**, И.Ю. Михайлов // XIV конференция «Физико-химические основы ионообменных процессов (ИОНИТЫ-2014) и Третий Всероссийский симпозиум «Кинетика и динамика обменных процессов» с международным участием. – Воронеж, 2014. – С. 241-243.

9. **Ермакова (Парийчук) Н.В.** Газохроматографические спектры удерживания летучих компонентов равновесной паровой фазы лекарственного растения пижма / **Н.В. Ермакова (Парийчук)**, Ю.И. Арутюнов, Л.А. Онучак, А.И. Хусаинова, А.В. Куркина // Всероссийская конференция «Теория и практика хроматографии» с международным участием. – Самара, 2015 – С. 39.

10. **Ермакова (Парийчук) Н.В.** Газохроматографические спектры удерживания летучих компонентов равновесной паровой фазы лекарственного растения календула / **Н.В. Ермакова (Парийчук)**, И.Ю. Михайлов, Ю.И. Арутюнов, Л.А. Онучак, Афанасьева П.В., Куркина А.В. // Всероссийская конференция «Теория и практика хроматографии» с международным участием. – Самара, 2015 – С. 40.

11. **Ермакова (Парийчук) Н.В.** Газохроматографические спектры удерживания летучих компонентов равновесной паровой фазы лекарственного растения зверобой / **Н.В.**

Ермакова (Парийчук), Л.А. Онучак, Ю.И. Арутюнов, И.Ю. Михайлов, О.Е. Правдивцева // Всероссийская конференция «Теория и практика хроматографии» с международным участием. – Самара, 2015 – С. 41.

12. **Ермакова (Парийчук) Н.В.** Газохроматографические спектры удерживания летучих компонентов равновесной паровой фазы лекарственного растения зверобой / **Н.В. Ермакова (Парийчук)** // Материалы научно-практической конференции с международным участием "Молодые учёные XXI века - от идеи к практике", посвященной 85-летию Клиник СамГМУ. – Самара, 2015 – С. 165-167.

13. Хусаинова А.И. Газохроматографическое исследование летучих компонентов пижмы обыкновенной / А.И. Хусаинова, А.В. Куркина, И.К. Петрухина, Л.А. Онучак, Ю.И. Арутюнов, **Н.В. (Парийчук) Ермакова** // Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Инновационные технологии в медицине и фармации». – Иркутск, 2016 – С. 208-211.

14. **Ермакова (Парийчук) Н.В.** Выбор параметров подготовки пробы для парофазного анализа лекарственного растительного сырья / Н.В. Ермакова // XIX Всероссийская конференция молодых ученых-химиков. – Нижний Новгород, 2016 – С. 180-181.

15. **Ермакова (Парийчук) Н.В.** Парофазный анализ летучих компонентов лекарственного растительного сырья «пижма обыкновенная» / Н.В. Ермакова, Л.А. Онучак, Ю.И. Арутюнов // Международная научная конференция «Фундаментальные и прикладные исследования в области химии и экологии». – Курск, 2016 – С. 108-110.

16. Онучак Л.А. Газохроматографические спектры удерживания летучих компонентов лекарственного растения «пижма обыкновенная» / Л.А. Онучак, Ю.И. Арутюнов, **Н.В. Ермакова (Парийчук)**, А.И. Хусаинова, А.В. Комзарова // V Всероссийский симпозиум с международным участием «Кинетика и динамика обменных процессов». – Сочи, 2016 – С. 168-170.

17. **Ермакова (Парийчук) Н.В.** Исследование летучих компонентов лекарственного растения «календула лекарственная» и спиртового экстракта на его основе / Н.В. Ермакова, А.А. Хвалёва, И.М. Садкова // XX Всероссийская конференция молодых ученых-химиков. – Нижний Новгород, 2017 – С. 309.

18. Онучак Л.А. Парофазный газохроматографический анализ лекарственного растительного сырья «зверобой продырявленный» / Л.А. Онучак, Ю.И. Арутюнов, **Н.В. Ермакова (Парийчук)** // III Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез». – Краснодар, 2017 – С. 85.

19. Онучак Л.А. Парофазный газохроматографический анализ лекарственного растительного сырья различного происхождения / Л.А. Онучак, Ю.И. Арутюнов, **Н.В. Ермакова (Парийчук)**, А.В. Комзарова // III Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез». – Краснодар, 2017 – С. 181.

20. **Ермакова (Парийчук) Н.В.** Применение прямого парофазного газохроматографического анализа в исследовании лекарственного растительного сырья и препаратов на основе боярышника / **Н.В. Ермакова (Парийчук)**, Л.А. Онучак, Ю.И. Арутюнов, А.А. Хвалёва // Третий съезд аналитиков России. – Москва, 2017 – С.326.

21. **Ермакова (Парийчук) Н.В.** Газохроматографическое и электрофоретическое исследование лекарственного растительного сырья «зверобой продырявленный» / **Н.В. Ермакова (Парийчук)**, Л.А. Онучак, Ю.И. Арутюнов // Третий съезд аналитиков России. – Москва, 2017 – С. 325.

Работы № 1-4 опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации содержания диссертаций.

Автор выражает благодарность сотрудникам кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета д. фарм. н., профессору В.А. Куркину и д. фарм. н., доценту О.Е. Правдивцевой, а также к.т.н., учебному мастеру кафедры физической химии и хроматографии Самарского университета Ю.И. Арутюнову и к.х.н, ст. преподавателю кафедры химии Самарского университета Л.В. Павловой за сотрудничество и помощь в обсуждении результатов.

