

А.В. Котович, В.В. Матюлевич
**ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ
ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО**

Научный руководитель: канд. фарм. наук, доц. Р.И. Лукашов
Кафедра фармацевтической химии
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A.V. Kotovich, V.V. Matyulevich
**HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY OF EXTRACTS
FROM HONGWEED SOSNOVSKY**

Tutor: PhD in pharm. sciences, associate professor R.I. Lukashov
Department of Pharmaceutical Chemistry
Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В данной статье описана высокоэффективная жидкостная хроматография извлечений из борщевика Сосновского. Идентифицированы биологически активные вещества (хлорогеновая кислота, лютеолина 7-глюкозид). Наиболее оптимальным экстрагентом для их извлечения является 70% этиловый спирт.

Ключевые слова: борщевик Сосновского, ВЭЖХ, этиловый спирт

Resume. this article describes the basis for high-performance liquid chromatography of extracts from hogweed Ssky. Biologically active substances (chlorogenic acid, luteolin 7-glucoside) have been identified. the most optimal extractant for withdrawal is 70% ethyl alcohol.

Keywords: Sosnowski's hogweed, HPLC, ethyl alcohol

Актуальность. Борщевик Сосновского – это сорное растение, обладающее большой биомассой. Борщевик является перспективным лекарственным растением ввиду его богатого химического состава. Борщевик обладает множеством фармакологических эффектов: антибактериальным, цитотоксическим, антикоагулянтным и др. [1, 2, 3].

Однако его сырье не включено в Государственную фармакопею Республики Беларусь и другие фармакопеи (фармакопеи Российской Федерации, Украины, Британии, США, Европы, Казахстана, Китая, Японии и Индии, а также в Немецкую гомеопатическую, Французскую гомеопатическую и Американскую травяную фармакопею).

Проведённые ранее спектрофотометрические анализы [4] показали, что наиболее оптимальным экстрагентом для извлечения суммы биологически активных веществ (БАВ) из борщевика является этиловый спирт в объёмной доле 70%. При этом интересным является проведение высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для определения индивидуальных БАВ и оценка их экстракции разными долями спирта этилового.

Цель: провести ВЭЖХ извлечений из борщевика Сосновского при использовании различных объёмных долей этанола.

Материалы и методы. Объектом исследования служила трава борщевика Сосновского, заготовленная в октябре 2021 г. сырье высушили воздушно-теневым методом. Для получения извлечений использовали сырьё, прошедшее через сито с

размером отверстий 180 мкм. Сырье массой около 1,5 г (точная навеска) экстрагировали 15,0 мл 30%, 40%, 70% и 96% этилового спирта. Экстракцию проводили на водяной бане в течение 2 ч.

Условия хроматографирования:

- колонка длиной 0,25 м и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная силикагелем октадецилсилильным для хроматографии Р с размером частиц 5 мкм;
- температура колонки: 35 °С;
- подвижная фаза:
- подвижная фаза А: кислота фосфорная Р – вода Р (1:999, об/об);
- подвижная фаза В: ацетонитрил Р.

Табл.1. Условия проведения ВЭЖХ

Время (мин)	Подвижная фаза А (%, об/об)	Подвижная фаза В (%, об/об)
0	90	10
0-13	90 → 78	10 → 22
13-14	78 → 60	22 → 40
14-20	60	40

- скорость подвижной фазы: 1,5 мл/мин;
- спектрофотометрический детектор, длина волны 330 нм;
- объем вводимой пробы: 10 мкл.

Анализ извлечений проводили на жидкостном хроматографе Ultimate 3000 с насосом на четыре растворителя и устройством для вакуумной дегазации элюента, автосамплером с термостатом, термостатом для колонок с краном переключения, диодно-матричным детектором. Обработку хроматограмм и спектров поглощения проводили с помощью компьютерной программы Chromeleon 7.

Идентификацию БАВ проводили путем сопоставления времен удерживания и спектров поглощения веществ в извлечении со стандартными образцами (гидроксикоричные кислоты (ГКК): кофейная, хлорогеновая, феруловая, транс-феруловая, галловая, эллаговая кислота; флавоноиды: кверцетин, рутин, кверцетин 3-глюкуронид, мирицетин, лютеолина 7-глюкозид, кемперола 3-глюкозид, изокверцитрин, гиперозид, дигидрокверцетин). Об экстракции индивидуальных БАВ судили по площадям соответствующих хроматографических пиков.

Обработка полученных данных осуществлялась с использованием компьютерной программы Microsoft Office Excel 2015 ($n = 5$; $P = 95\%$).

Результаты и их обсуждение. При проведении ВЭЖХ выявлено, что исследуемые извлечения содержали следующие вещества: хлорогеновая кислота (1), флавоноид со временем удержания 11,4 мин (2), ГКК – 11,6 мин (3), флавоноид – 13,2 мин (4), флавоноид – 13,4 мин (5), флавоноид – 13,7 мин (6) и лютеолина 7-глюкозид (7). (рис.1–4).

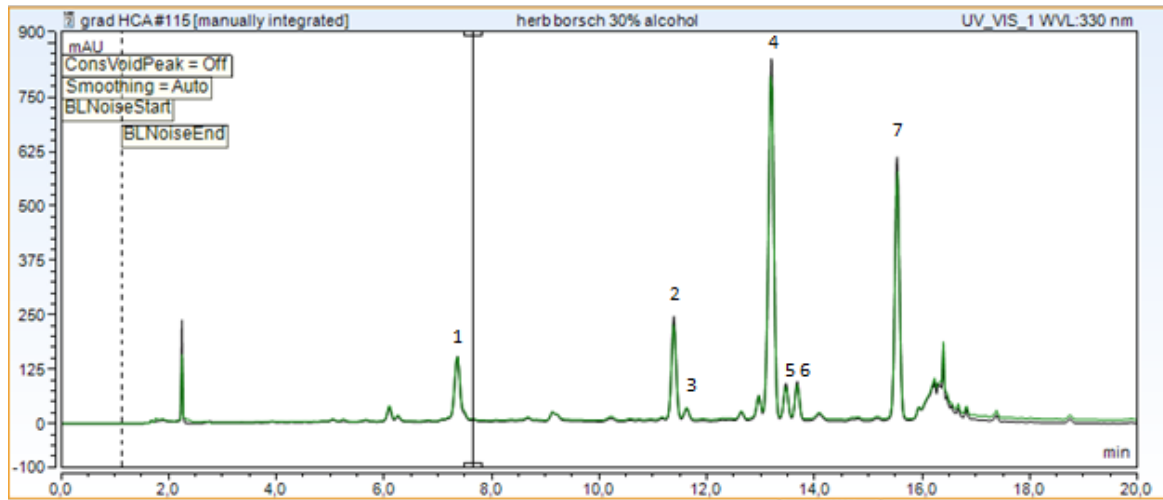


Рис. 1 – Хроматограмма водно-спиртового извлечения из борщевика Сосновского при объёмной доле этанола 30%

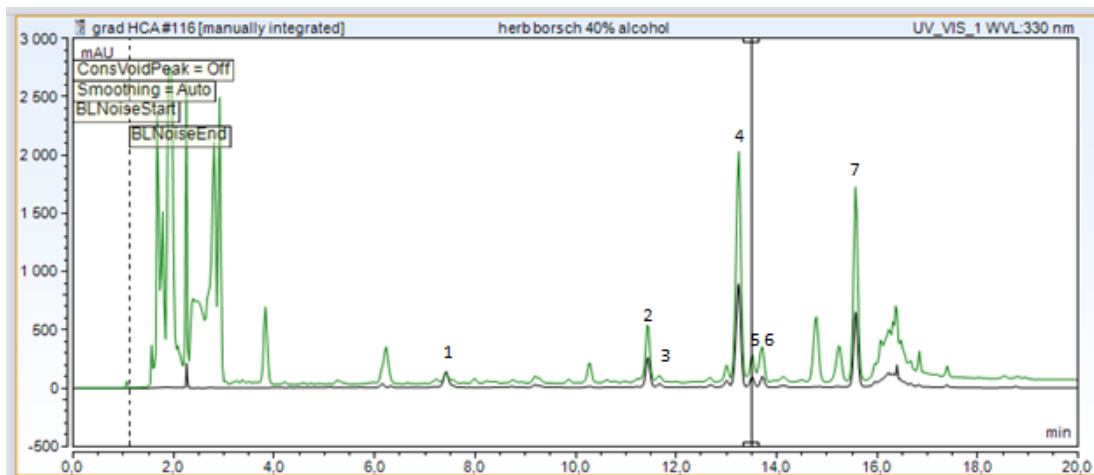


Рис. 2 – Хроматограмма водно-спиртового извлечения из борщевика Сосновского при объёмной доле этанола 40%

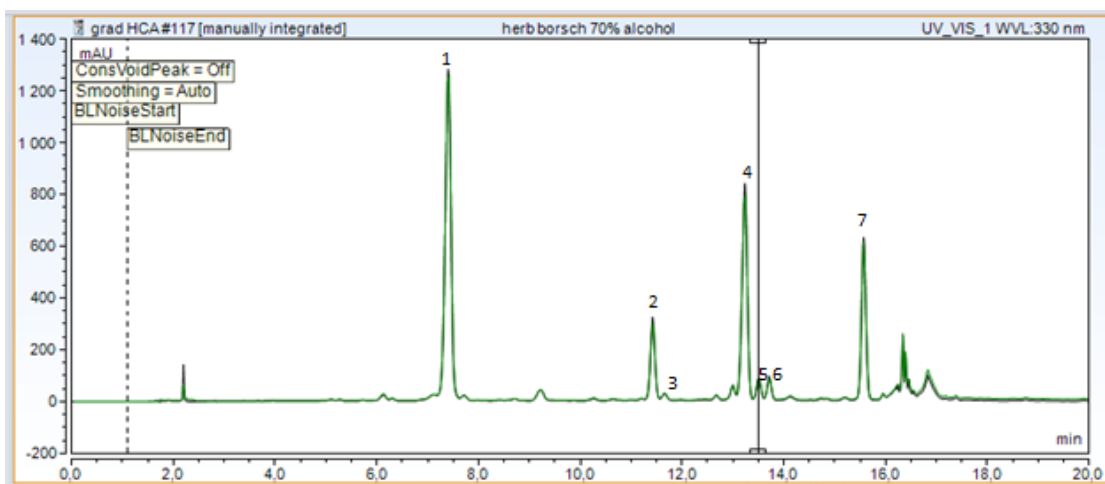


Рис. 3 – Хроматограмма водно-спиртового извлечения из борщевика Сосновского при объёмной доле этанола 70%

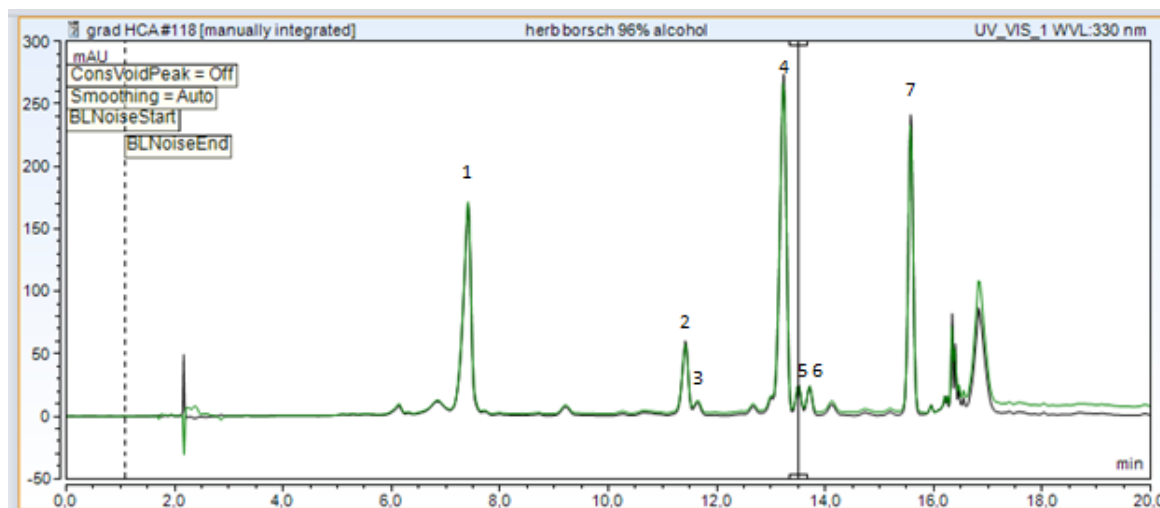


Рис. 4 – Хроматограмма водно-спиртового извлечения из борщевика Сосновского при объёмной доле этанола 96%

Из рис. 1–4 видно, что все идентифицированные соединения присутствовали во всех изученных извлечениях, поэтому в дальнейшем изучили их экстракцию в зависимости от объёмной доли этанола (рис.5).

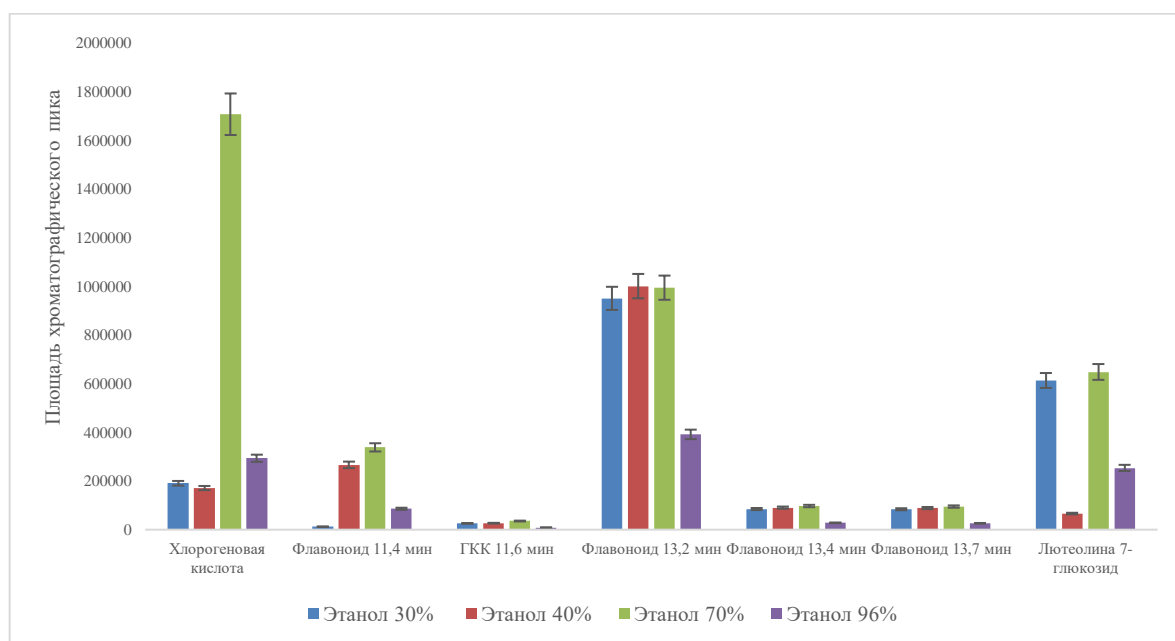


Рис. 5 – Зависимость экстракции индивидуальных БАВ от объёмной доли этанола

Из рис.5 следует, что все идентифицированные БАВ (кроме флавоноида 13,2 мин) наиболее эффективно извлекались при экстракции 70% этиловым спиртом. Наибольшая площадь пика отмечена для хлорогеновой кислоты.

Согласно литературным источникам хлорогеновая кислота и ее производные оказывают выраженный антиоксидантный эффект [4], что обуславливает высокую антиоксидантную активность извлечения из борщевика на 70% этилового спирте.

Выводы:

Методом ВЭЖХ идентифицированы хлорогеновая кислота и лютеолина 7-глюкозид в извлечениях из борщевика Сосновского. При экстракции 70% этиловым спиртом извлекается наиболее количество индивидуальных БАВ.

Литература

1. Zhang, L. Coumarin-containing hybrids and their anticancer activities / L. Zhang, Z. Xu // Eur. J. of Med. Chem. – 2019. – Vol. 181. – DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.111587.
2. Magdalena, W. Bioactivity-guided isolation of antimicrobial coumarins from *Heracleum Sosnowski* Sommier & Levier (Apiaceae) fruits by highperformance counter-current chromatography / W. Magdalena // Food Chemistry. – 2015 – Vol. 186, № 1. – P. 133-138.
3. Сипинская, О. Ф. Фитохимическое исследование Борщевика Сосновского, разработка технологий препаратов и изучение их фармакологического действия : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.04.01. – М., 1990. – 25 с.
4. Котович, А. В. Спектрофотометрия извлечений *Heracleum Sosnowskyi* / А. В. Котович // Актуальные вопросы современной медицины и фармации [Электронный ресурс] : материалы 74-й научно-практической конференции студентов и молодых учёных, Витебск, 28 апреля 2022. – Витебск, ВГМУ, 2022. – С. 579.
5. Овчинникова, С. Я. Определение хлорогеновой кислоты методом планарной хроматографии / С. Я. Овчинникова, Т. Д. Мезенова, Т.В. Орловская // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6. ; URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=11408> (дата обращения : 05.10.2022).