

ФАРМАЦЕВТИЧНІ НАУКИ

ВИВЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ЕКСТРАКТУ БУЗКУ МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Гладух Є.В.,

*Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна,
завідувач кафедри промислової фармації, доктор фармацевтичних наук,
професор*

Улизко І.В.

Одеський національний медичний університет, асистент

STUDYING OF PHENOLIC COMPOUNDS OF LILAC EXTRACT BY THE METHOD OF HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Gladukh Ie.V.,

*National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine, Head of Department
of Industrial Pharmacy, Doctor of pharmacy, Professor*

Ulizko I.V.

Odessa National Medical University, Assistants

Анотація

Мета дослідження – вивчення фенольних сполук в екстракті бузку. Для досягнення даної мети використовували метод вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Методом ВЕРХ виявлено 19 сполук, з яких ідентифіковано 9 речовин фенольної природи. Вміст суми ідентифікованих фенольних сполук склало 74,12 % від усіх виявлених даним методом речовин.

Abstract

Research objective – studying of phenolic compounds in of lilac extract. For achievement of the given purpose used a method of a high-performance liquid chromatography (HPLC). Method of HPLC allowed to discover 19 compounds, including 9 substances of the phenolic nature. The maintenance of the sum of the identified phenolic compounds has made 74,12 % from all substances, found out by given method.

Ключові слова: екстракт бузку, фенольні сполуки, вискоєфективна рідинна хроматографія.

Keywords: lilac extract, phenolic compounds, a high-perfomance liquid chromatography.

Рід бузок (*Syringa L.*) відноситься до сімейства маслини (*Oleaceae Lindl.*). Описано К. Лінеєм у 1753 р Рід включає листопадні дерева і чагарники. Поширений в Південній Європі і східній Азії, в основному в Китаї [4]. Згідно з різними джерелами рід налічує від 20 до 36 видів [3], крім того, вид бузок звичайний (*S. vulgaris*) включає близько 1300-1600 сортів [4]. Також існує велика кількість сортів, міжвидових гібридів і форм серед інших видів даного роду. В даний час рід бузок поділяють на 2 підроду: бузку і лігустріну. Підрід бузку складається з чотирьох серій: пухнасті, волосисті, перистолисті і справжні бузки.

Препарати бузку використовуються в основному в народній медицині. З давніх-давен плоди і кора бузку використовувалися в європейській народній медицині як тонізуючий препарат, а свіже листя застосовувалося для лікування малярії. Настоянка кори (на горілці) використовується як тонізуючий засіб, суцвіття – як тонізуючий і при лікуванні туберкульозу; в Японії суцвіття застосовуються в якості діуретичного засобу [5]. При використанні та створенні препаратів з бузку потрібна обережність, тому що рослина отруйна.

Зростаючі потреби фармацевтичного ринку, пов'язані з необхідністю розробки нових лікарських препаратів, створили передумови для вивчення хімічного складу лікарських рослин, в тому числі і в квітках бузку [1]. Детальні дослідження показали, що в даному природному джерелі виявляється ряд фенольних сполук, багато з яких знаходиться в глікозильованій формі [6, 7]. Найбільш відомим з них є 4-0-(3-П)-глюкопіранозид сінапового спирту або сірінгін. Відносно недавно було показано, що сірінгін володіє імуномодулюючими, протиалергічними та протизапальними властивостями [10]. Він також пригнічує процеси резорбції кісток, проявляє гіпотензивний ефект і цитостатичну дію на ракові клітини [8, 11, 12].

З літературних даних випливає, що квіти бузку є важливим джерелом біологічно активних сполук. Однак інформація щодо кількісного вмісту даних речовин, зокрема сірінгину, у представників роду *Syringa* відсутня.

У зв'язку з цим метою даної роботи було вивчення фенольних сполук густого екстракту, отриманого з квіток бузку [2]. Для досягнення даної мети використовували метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [9].

Хроматографування досліджуваних зразків проводили на рідинному хроматографі Shimadzu HPLC-system, ser.20, обладнаному діодноматричним детектором в таких умовах:

- колонка Phenomenex Luna C18(2), розміром 250 мм x 4,6 мм, розмір часток 5 мкм;
- температура колонки – 35 °С;
- довжина хвилі детектування – 330 нм (для гідроксикорчних кислот, глікозидів флавоноїдів), 370 нм (для агліконів флавоноїдів), 280 нм (для дубильних речовин);

- швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв;
 - об'єм проби, що вводився – 5 мкл;
- Рухома фаза: Елюент А: 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти у воді;
Елюент Б: 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі.

Час хроматографування (хв.)	Елюент А, %	Елюент Б, %
0–5	95	5
5–35	95 → 75	5 → 25
35–40	75	25
40–60	75 → 50	25 → 50
60–65	50 → 20	50 → 80
65–70	20	80
70–85	95	5

Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та за відповідністю УФ-спектрів речовинам-стандартам.

Було ідентифіковано 19 фенольних сполук та кількісно визначено 9 речовин.

Розрахунки проводили за формулою, % (без врахування вмісту вологи):

$$X, \% = \frac{A_{pr} \times m_{st} \times V_{pr} \times P \times 100}{A_{st} \times V_{st} \times m_{pr} \times 100}$$

A_{pr} – площа піку речовини на хроматограмі досліджуваного розчину;

A_{st} – площа піку речовини на хроматограмі стандартного розчину;

m_{st} – маса стандартного зразка речовини в стандартному розчині, мг;

m_t – маса препарату, мг;

V_{pr} – розведення досліджуваного розчину, мл;

V_{st} – розведення стандартного розчину, мл;

P – активність стандарту, %

Хроматографічні характеристики сполук, що знайдені методом ВЕРХ в екстракті, наведені в таблиці.

Таблиця

Фенольний склад водно-спиртового екстракту квітів бузку

Речовина	Площа піку в дослідному розчині	Площа піку в стандартному розчині	Концентрація в стандартному розчині, мг/мл	Вміст, %
Галова кислота	10774	4809453	0,396	0,00303
Хлорогенова кислота	175793	5677971	0,408	0,04459
Катехін	214671	398192	0,077	0,14809
Кофейна кислота	377337	10023248	0,444	0,05461
Скополетин	0	6690459	0,33	0,00000
Гіперозид	0	3940971	1,21	0,00000
Рутин	235878	3386330	0,456	0,11450

Апігенін-7-глюкозид	0	667040	0,096	0,00000
Апігенін	0	1252239	0,13	0,00000
Лютеолін	0	1305420	0,13	0,00000
Кверцитрин	17189	73086	0,021	0,01855
ізо-Кверцитрин	1885	1807045	0,123	0,00048
Елагова кислота	0	1263570	0,184	0,00000
Умбеліферон	0	1898213	0,8	0,00000
Ферулова кислота	0	1826744	0,36	0,00000
Розмаринова кислота	0	666764	0,15	0,00000
Кверцетин	25596	5778331	0,5184	0,00795
ізо-Рамнетин	0	1176747	0,15	0,00000
Кемпферол	6234	2157799	0,2	0,00200

Найбільш типова хроматограма представлена на рисунку. На ній можна знайти кілька піків, переважачими за інтенсивністю з яких в більшості екстрактів є піки на 3,9, 16,6 і 33,1 хв. Експерименти з використанням стандартної сполуки сірінгіну, отриманого в результаті тонкошарової хроматографії, показали, що речовина з часом утримування 16,6 хв є сірінгін.

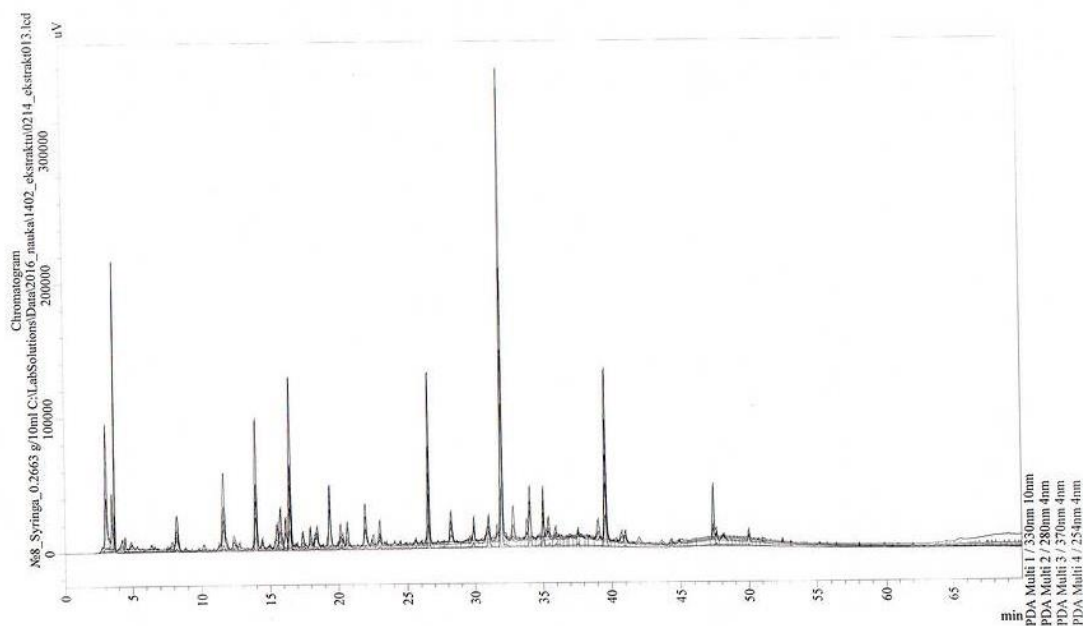


Рис. Хроматограма екстракту квітів бузку

Додаткове підтвердження цього факту було отримано із застосуванням методу мас-спектрометрії. У мас-спектрі виявляються інтенсивні піки з 372 і 371 m/z, відповідні молекулярним іонам сірінгіну.

Методом ВЕРХ в водно-спиртовому екстракті квіток бузку виявлено 19 сполук, з них ідентифіковано 9 речовин фенольної природи: галова кислота, хлорогенова кислота, катехін, кавова кислота, рутин, кверцитрин, ізо-квер-

цитрин, кверцетин, кемпферол. Вміст суми ідентифікованих фенольних сполук склав 74,12 % від усіх виявлених даним методом сполук.

Висновки. Таким чином, в складі екстракту отриманого за допомогою спирту етилового з висушених квіток бузку методом ВЕРХ було виявлено 19 сполук, з них ідентифіковано 9 речовин фенольної природи.

Список використаної літератури

1. Актуальные проблемы и перспективы развития фитотерапии / В. А. Куркин [и др.] // Мед. Альманах. – 2008. – № 4. – С. 41-44.
2. Вдовиченко И.В. Разработка геля с густым экстрактом цветков сирени / И.В. Вдовиченко, Е.В. Гладух // Хабаршысы. – 2016. – № 4 (44). Том. 1. – С. 34-35.
3. Горб, В.К. Сирени на Украине / В.К. Горб. – К.: Науковая думка, 1989. – 160 с.
4. Иванова, З.Я. Сирени / З.Я. Иванова. – М.: Издательский дом МСП, 2005. – 192 с.
5. Исследования по созданию иммуномодулирующего средства на основе коры сирени обыкновенной / В. А. Куркин [и др.] // Актуальные проблемы современной химии: тезисы междунар. конф., 2000. – С. 35-36.
6. Куркин, В.А. Лигнаны коры из *Syringa vulgaris* / В. А. Куркин, Н.А. Гриненко, Г.Г. Запесочная // Хим. природ, соед. – 1991. – № 6. – С. 768-771.
7. Фенольные соединения коры из *Syringa amurensis* / В.А. Куркин [и др.] // Хим. природ, соед. – 1992. – № 5. – С. 583-585.
8. Ahmad, M. Hypotensive action of syringin from *Syringa vulgaris* / M. Ahmad, K. Aftab // *Phytotherapy Res.* – 1995. – Vol. 9, № 6. – P. 452-454.
9. Chen, H. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography / H. Chen, Y. Zuo, Y. Deng // *Journal of Chromatography A.* – 2001. – Vol. 913. – P. 387-394.
10. In vitro and in vivo immunomodulatory effects of syringin / J. Y. Cho [et al] // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 53. – P. 1287-1294.
11. Metabolism of liriiodendrin and syringin by human intestinal bacteria and their relation to in vitro cytotoxicity. / D. H. Kim [et al.] // *Arch. Pharm. Res.* – 1999. – Vol. 22, № 1. – P. 30-34.
12. The effect of Kampo formulae on bone resorption in vitro and in vivo. I. Active constituents of Tsu-kan-gan. / H. Li [et al.] // *Biol. Pharm. Bull.* – 1998. – Vol. 21, № 12. – P. 1322-1326.