УДК 615.322:582.677.2:543.544.5.068.7

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В АНАЛИЗЕ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫХ ЛАКТОНОВ ЛАВРА БЛАГОРОДНОГО (LAURUS NOBILIS L.)

¹С.П. Сенченко, ²Н.М. Насухова, ¹Л.А. Азова, ¹Д.А. Коновалов

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск

²Дагестанский государственный университет, г. Махачкала

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY USE IN ANALYSIS OF SESQUITERPENIC LACTONES OF LAURUS NOBILIS

¹S.P. Senchenko, ²N.M. Nasukhova, ¹L.A. Agova, ¹D.A. Konovalov

¹Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of Volgograd State Medical University, Pyatigorsk

²Dagestan State University, Makhachkala

E-mail: asp_nauka@mail.ru

Разработана методика количественного определения сесквитерпеновых лактонов (костунолида и дегидрокостуслактона) в листьях лавра благородного с использованием метода обращенно-фазовой ВЭЖХ. Были определены оптимальные условия экстракции изучаемых веществ из сырья. С использованием разработанной методики установлено, что содержание костунолида и дегидрокостуслактона в образцах лавра, в пересчете на абсолютно сухое сырье, достигает 0,99 и 0,26% соответственно.

Ключевые слова: сесквитерпеновые лактоны, костунолид, дегидрокостуслактон, лавр благородный, ВЭЖХ.

Laurus nobilis L. (лавр благородный, сем. *Lauraceae*) представляет собой вечнозеленый кустарник или дерево высотой 15-20 м., широко распространен в Средиземноморском регионе и Европе [4]. Его листья традиционно используются в народной медицине при астме, болезнях сердца, нарушении пищеварения, диарее, мигрени, дисменорее и ревматических болях. В качестве основных дей-

We have developed a methodology of quantitative determination of sesquiterpenic lactones (costunolide and dehydrocostuslactone) in leaves of *Laurus nobilis* using reversed phase HPLC. We have determined optimal conditions for the substances under study extraction from active parts. Using the developed methods we have established that costunolide and dehydrocostuslactone content in *Laurus nobilis* samples in terms of absolutely dry active parts is 0.99 and 0.26% correspondingly.

Keywords: sesquiterpenic lactones, costunolide, dehydrocostuslactone, *Laurus nobilis*, HPLC.

ствующих веществ в растении описаны сесквитерпеновые лактоны [1], важнейшими из которых являются костунолид и дегидрокостуслактон. Данные соединения показали высокую активность при лечении рака, вирусных и микробных инфекций, язв и обладают антисептическими, противовоспалительными, ранозаживляющими и глистогонными свойствами [2, 3, 5, 6].

Наличие столь ценных фармакологических соединений в листьях лавра благородного предполагает рассматривать данное сырье как перспективное для внедрения в медицинскую практику. При создании нормативной документации на сырье важнейшим этапом является разработка методики количественного определения основных биологически активных веществ.

В этой связи, целью настоящей работы является разработка ВЭЖХ-методики количественного определения костунолида и дегидрокостуслактона в листьях лавра благородного.

В работе использовали высушенные листья лавра благородного, собранные на территории Краснодарского края (г. Геленджик) и в Республике Абхазия (г. Сухуми) в 2014 году. В качестве стандартных образцов использовали костунолид и дегидрокостуслактон производства компании Sigma, с содержанием действующих веществ не менее 97% и 98% соответственно.

Для количественного определения костунолида и дегидрокостуслактона использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Работу проводили на системе для ВЭЖХ «Стайер» (компания «Аквион», Россия). В работе применялась колонка Luna C 8 «Phenomenex, USA». Размер колонки 250x4,6 мм. Ввод пробы осуществлялся с помощью петлевого дозатора. Объем

пробы 20 мкл. Элюирование проводилось в изократическом режиме. Элюент А – ацетонитрил, элюент В – 0,05 М раствор кислоты фосфорной, в соотношении 60:40. Расход подвижной фазы 1мл/мин. Детектирование проводилось спектрофотометрически при 210 нм.

Предварительно было установлено, что двойная экстракция метанолом при соотношении сырье:экстрагент 1:250 обеспечивает максимальный выход определяемых веществ.

Методика количественного определения костунолида и дегидрокостуслактона. Точную навеску (около 0,1 г) высушенных и измельченных до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром пор 3 мм, листьев лавра благородного помещали в коническую колбу, прибавляли 25 мл метанола и кипятили с обратным холодильником в течение 30 мин. Полученное извлечение фильтровали в мерную колбу вместимостью 50 мл. Операцию повторяли, объединяя полученные извлечения, и доводили тем же растворителем до метки. Затем 1 мл полученного извлечения переносили в пробирки типа Эппендорф, центрифугировали при 8000 мин⁻¹ в течение 10 мин и использовали для хроматографирования. Типичная хроматограмма извлечения из листьев лавра благородного представлена на рисунке 1.

Рисунок 1 – Хроматограмма метанольного извлечения из листьев лавра благородного

Количественное определение изучаемых сесквитерпеновых лактонов в исследуемых образцах проводили методом сравнения со стандартными образцами

Результаты количественного определения костунолида и дегидрокостус-

лактона в листьях лавра благородного, собранных в Абхазии (г. Сухуми) и Краснодарском крае (г. Геленджик), в пересчете на абсолютно сухое сырье, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты количественного определения костунолида и дегидрокостус-лактона в разных образцах листьев лавра благородного в пересчете на абсолютно сухое сырье

Место сбора	Содержание, % $\pm$ SD	
	Костунолид	Дегидрокостуслактон
г. Геленджик	0,99 $\pm$ 0,05	0,11 $\pm$ 0,01
г. Сухуми	0,99 $\pm$ 0,05	0,26 $\pm$ 0,01

Выводы

Таким образом, разработана методика количественного определения костунолида и дегидрокостуслактона в листьях лавра благородного с использованием ВЭЖХ. В ходе эксперимента оптимизированы условия экстракции изучаемых веществ. Установлено, что содержание костунолида и дегидрокостуслактона в листьях лавра различных мест сбора существенно не отличается и достигает 0,99 и 0,26% соответственно.

Библиографический список

1. Коновалов Д.А., Насухова Н.М. Сесквитерпеновые лактоны листьев и плодов лавра благородного (*Laurus nobilis* L.) // Фармация и фармакология. 2014. №2. С. 23-33.
2. Antimicrobial sesquiterpenoids from *Laurus nobilis* L. / N. Fukuyama, Ch. Ino, Y. Suzuki et al. // Natural Product Research. – 2011. – Vol. 25, N 14. – P. 1295-1303.
3. Sesquiterpene Lactones Downregulate G2/M Cell Cycle Regulator Proteins and Affect the Invasive Potential of Human Soft Tissue Sarcoma / B. Lohberger, B. Rinner, N. Stuehl et al. // Cells PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8(6)/ – P. 1-9.
4. Sesquiterpenes from the leaves of *Laurus nobilis* L. / E. Julianti, K. H. Jang, S. Lee et al. // Phytochemistry. – 2012. – Vol. 80. – P. 70-76.
5. Sesquiterpenes (costunolide and zaluzanin D) isolated from laurel (*Laurus nobilis* L.) induce cell death and morphological change indicative of apoptotic chromatin condensation in leukemia HL-60 cells / H. Hibasami, Y. Yamada, H. Moteki et al. // International Journal of Molecular Medicine. – 2003. – Vol. 12. – P. 147-151.
6. Synergistic antimycobacterial activities of sesquiterpene lactones from *Laurus* spp. / J. Luna-Herrera, M.C. Costa, H.G. Gonzalez et al. // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2007. – Vol. 59, Is. 3. – P. 548-552.

Сенченко Сергей Петрович – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико - фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: хроматографические методы, метод капиллярного электрофореза.

Насухова Наида Махмудовна – аспирант кафедры фармакогнозии Дагестанского государственного университета.

Агова Лариса Аслановна – студентка Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России.

Коновалов Дмитрий Алексеевич – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фитохимия, химия природных соединений, хемотаксономия. E-mail:konovalov_da@pochta.ru