

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 615.322:582.683

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЭЖХ И КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФЕРЕЗА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОСТУНОЛИДА И ДЕГИДРОКОСТУСЛАКТОНА В ЛИСТЬЯХ ЛАВРА БЛАГОРОДНОГО

С. П. Сенченко, Н. М. Насухова, Л. А. Агова, Д. А. Коновалов

*Пятигорский медико-фармацевтический институт —
филиал Волгоградского государственного медицинского университета,
кафедра фармацевтической и токсикологической химии, кафедра фармакогнозии,
Дагестанский государственный университет*

В работе показана возможность использования высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и капиллярного электрофореза для анализа сесквитерпеновых лактонов (костунолида и дегидрокостуслактона) в листьях лавра благородного (*Laurus nobilis L.*). В результате установлено, что обоими методами получены сопоставимые результаты по содержанию костунолида и дегидрокостуслактона во всех образцах исследованного сырья.

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

USING HPLC AND CAPILLARY ELECTROPHORESIS FOR QUANTIFYING COSTUNOLIDE AND DEHYDROCOSTUSLACTONE IN LAUREL LEAVES

S. P. Senchenko, N. M. Nasuhova, L. A. Agova, D. A. Konovalov

The paper demonstrated the potential of HPLC and capillary electrophoresis when used for the analysis sesquiterpene lactones (costunolide and dehydrocostuslactone) in the leaves of laurel (*Laurus nobilis L.*). We found that both methods had yielded comparable results as to the content of costunolide and dehydrocostuslactone in all the samples of the studied raw materials.

Key words: sesquiterpene lactones, costunolide, dehydrocostuslactone, bay laurel, HPLC, capillary electrophoresis.

Накоплено большое количество данных о высокой фармакологической активности сесквитерпеновых лактонов [2, 3, 4]. Особый интерес вызывают костунолид и дегидрокостуслактон (рис. 1), которые содержатся в различных растениях (лавр благородный, соснурия горькая, соснурия лопуховидная и др.). Это связано с высокой активностью их при лечении рака, вирусных и микробных инфекций, язв и способностью проявлять антисептический, противовоспалительный, ранозаживляющий и глистогонный эффект [1, 7—10].

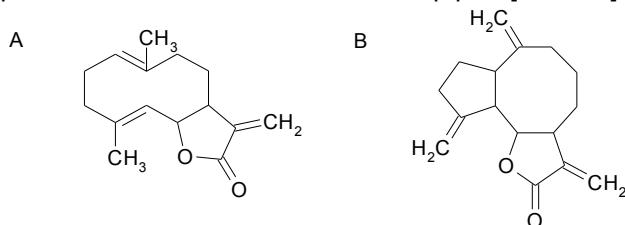


Рис. 1. Химическая структура костунолида (А) и дегидрокостуслактона (В)

Наличие столь ценных фармакологических свойств у костунолида и дегидрокостуслактона позволяет рассматривать сырье, их содержащее, как перспективное для внедрения в медицинскую практику. При создании нормативной документации на лекарственное растительное сырье важнейшим этапом является разработка методики количественного определения основных биологически активных веществ [5, 6].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение возможности использования ВЭЖХ и капиллярного электрофореза для количественного определения костунолида и дегидрокостуслактона в растительных объектах.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объектов исследования использовали высушенные листья лавра благородного, собранные на территории Краснодарского края (г. Геленджик) и в Рес-

публике Абхазия (г. Сухуми) в 2014 г. 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 методом ВЭЖХ использовали хроматографическую систему для ВЭЖХ «Стайер» (компания «Аквилон», Россия). В работе применялась колонка Luna C 8 «Phenomenex, USA». Размер колонки 250 × 4,6 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 1 мл/мин. Детектирование проводилось спектрофотометрически при 210 нм.

Для количественного определения костунолида и дегидрокостуслактона использовался также метод капиллярного электрофореза. Работу проводили на системе капиллярного электрофореза Капель 105 (группа компаний «Люмэкс», Россия). В работе применялся термостатируемый кварцевый капилляр с рабочей длиной 65 см и диаметром 75 мкм. Ввод пробы осуществлялся гидродинамически при 150 мБар × с. Опыт проводился при температуре 20 °С и напряжении 20 кВ (блок положительной полярности). Детектирование осуществляли спектрофотометрически при 210 нм. Учитывая нейтральный характер изучаемых соединений (рис. 1), эксперимент проводили в условиях мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ), при этом в качестве ведущего электролита использовали раствор, содержащий натрия тетрабората декагидрат (концентрация 2 мг/мл), натрия додецилсульфат (концентрация 10 мг/мл) и мочевины (концентрация 400 мг/мл).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

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

Методика количественного определения костунолида и дегидрокостуслактона. Точную навеску (около 0,1 г) листьев лавра благородного, высушенных и измельченных до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром пор 3 мм, 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 анализа (в случае ВЭЖХ). Типичная хроматограмма извлечения из листьев лавра благородного представлена на рис. 2.

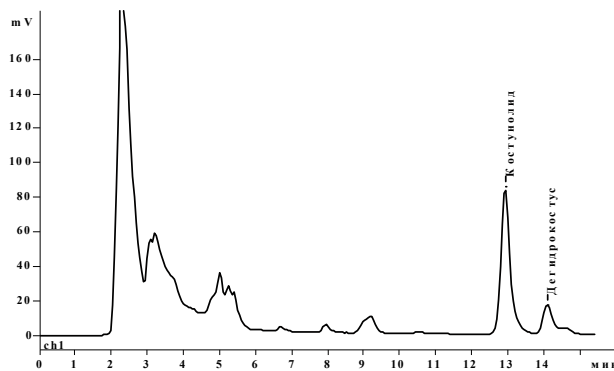


Рис. 2. Хроматограмма метанольного извлечения из листьев лавра благородного

При анализе капиллярным электрофорезом 1 мл полученного по приведенной выше методике метанольного извлечения выпаривали в токе теплого воздуха и растворяли в 1 мл смеси электролит — вода (1 : 10). После чего центрифугировали при 8000 мин⁻¹ в течение 10 мин и использовали для анализа. Типичная электрофореграмма извлечения из листьев лавра благородного представлена на рис. 3.

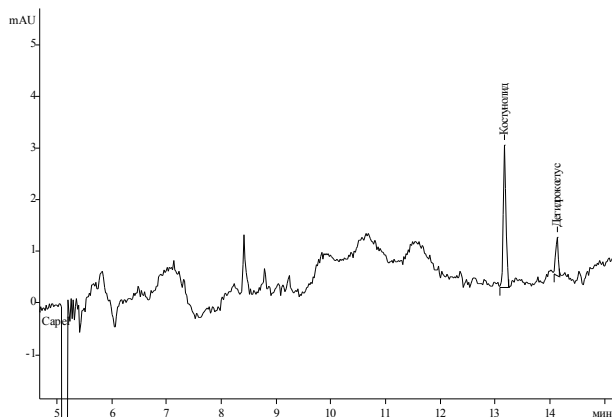


Рис. 3. Электрофореграмма извлечения из листьев лавра благородного

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

Результаты количественного определения костунолида и дегидрокостуслактона в листьях лавра благородного, собранных в Абхазии (г. Сухуми) и Краснодарском крае (г. Геленджик), в пересчете на абсолютно сухое сырье, представлены в таблице.

Результаты количественного определения костунолида и дегидрокостуслактона в образцах листьев лавра благородного в пересчете на абсолютно сухое сырье

| Место сбора | Содержание, % ± SD | | | |
|--------------|--------------------|-------------|---------------------|-------------|
| | костунолид | | дегидрокостуслактон | |
| | ВЭЖХ | КЭ | ВЭЖХ | КЭ |
| г. Геленджик | 0,99 ± 0,05 | 0,97 ± 0,06 | 0,11 ± 0,01 | 0,12 ± 0,01 |
| г. Сухуми | 0,99 ± 0,05 | 0,92 ± 0,06 | 0,26 ± 0,01 | 0,24 ± 0,01 |

Таким образом, данные, полученные методом капиллярного электрофореза, достоверно подтверждают результаты ВЭЖХ-анализа костунолида и дегидрокостуслактона в листьях лавра благородного, что свидетельствует об их достоверности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показана возможность использования как ВЭЖХ, так и капиллярного электрофореза в анализе костунолида и дегидрокостуслактона. При этом на примере листьев лавра благородного обоими методами получены сопоставимые по количественному содержанию результаты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аджиенко В. Л. Отношение врачей к практике клинических исследований // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2005. — № 4. — С. 32—34.
2. Коновалов Д. А., Старых В. В. Фитотоксическая активность некоторых сесквитерпеновых лактонов, выделенных из представителей сем. *Asteraceae* // Растительные ресурсы. — 1997. — Т. 33, № 4. — С. 17—27.
3. Коновалова Д. С., Коновалов Д. А. Сесквитерпеновые лактоны пиретрума девичьего как биологически активные вещества // Экология человека. — 2008. — № 3. — С. 3—7.
4. Погребняк А. В., Поройков В. В., Старых В. В., Коновалов Д. А. Компьютерный прогноз противоопухолевой активности сесквитерпеновых лактонов, обнаруженных в представителях семейства *Asteraceae* // Растительные ресурсы. — 1998. — Т. 34, № 1. — С. 61—64.
5. Сенченко С. П., Печенова А. В. ВЭЖХ и капиллярный электрофорез в анализе производных кемпферола

в представителях семейства капустные // Фармация. — 2010. — № 1. — С. 5—8.

6. Сенченко С. П., Чеченева К. С., Гаверилин М. В., Ушакова Л. С. Использование метода капиллярного электрофореза для изучения фармакокинетики бутонназала нитрата // Химико-фармацевтический журнал. — 2009. — Т. 43, № 11. — С. 7—10.

7. Fukuyama N., Ino Ch., Suzuki Y., et al. Antimicrobial sesquiterpenoids from *Laurus nobilis* L. // Natural Product Research. — 2011. — Vol. 25, № 14. — P. 1295—1303.

8. Hibasami H., Yamada Y., Moteki H., et al. 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 // International Journal of Molecular Medicine. — 2003. — Vol. 12. — P. 147—151.

9. Lohberger B., Rinner B., Stuedl N., et al. Sesquiterpene Lactones Downregulate G2/M Cell Cycle Regulator Proteins and Affect the Invasive Potential of Human Soft Tissue Sarcoma Cells // PLoS ONE. — 2013. — Vol. 8, Is. 6. — P. 1—9.

10. Luna-Herrera J., Costa M. C., Gonzalez H. G., et al. Synergistic antimycobacterial activities of sesquiterpene lactones from *Laurus* spp. // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. — 2007. — Vol. 59, Is. 3. — P. 548—552.

Контактная информация

Коновалов Дмитрий Алексеевич — д. фарм. н., проф., зам. директора по науке, Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал Волгоградского государственного медицинского университета, e-mail: d.a.konvalov@pmedpharm.ru

УДК 616.831-009.11-031.4

ОЦЕНОЧНАЯ ШКАЛА ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РИСКА РАЗВИТИЯ ДЕТСКОГО ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ПАРАЛИЧА У НОВОРОЖДЕННЫХ

Н. В. Малюжинская, Г. В. Клиточенко, Н. Л. Тонконоженко, П. С. Кривоножкина

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра детских болезней*

В данной статье систематизированы и проанализированы анамнестические факторы риска развития детского церебрального паралича. Выявлены критерии прогнозирования развития ДЦП у новорожденных. Разработана балльная оценочная шкала для оптимизации диспансерного наблюдения за данной категорией пациентов.

Ключевые слова: новорожденные, детский церебральный паралич, оценочная шкала, прогнозирование.

RISK EVALUATION SCALE FOR CEREBRAL PALSY IN INFANTS

N. V. Maluzhinskaia, G. V. Klitochenko, N. L. Tonkonozhenko, P. S. Krivonozhkina

Risk factors for cerebral palsy were revealed and analyzed. The criteria for predicting cerebral palsy in infants were identified. An evaluation scale aimed at improving care for infants with cerebral palsy was developed.

Key words: infants, cerebral palsy, evaluation scale, prediction.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Для оптимизации оказания своевременной квалифицированной медицинской помощи детям с патологией центральной нервной системы (ЦНС) детс-

ким церебральным параличом (ДЦП) на амбулаторном этапе наблюдения необходимо усовершенствовать прогнозирование риска развития ДЦП у новорожденных.