

ISSN 2414-9918



# MODERN SCIENCE

SEPTEMBER  
2016

Ismailov I.Z.®

Associate Professor, Candidate of Pharmaceutical Sciences, the Department of Basic and Clinical Pharmacology of the I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, Bishkek, the Kyrgyz Republic

## DETERMINATION OF ASCORBIC ACID AND FLAVONOIDS CONTENT IN THE EXTRACT OF PADUS GRAYANAE MAXIM BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC) METHOD

### Summary

The results of phytochemical analysis of extract *Padus Grayanae Maxim* on the identification and quantitative determination of the content of flavonoids and ascorbic acid by HPLC method are presented. Comparative analysis of components chromatograms of studied preparation and standard samples of rutin, quercetin and ascorbic acid has shown that in the extract samples of *Padus Grayanae Maxim* substance of rutin was 5.96 mg/l; quercetin - 3.24 mg/l; ascorbic acid - 19.17 mg/l. Methodology of the identification and identified quantitative parameters of the content of flavonoids and ascorbic acid can be used in the development of an automatic external defibrillator (AED) for Immunaz phytopreparation.

### Аннотация

В работе представлены результаты фитохимического анализа экстракта *Padus Grayanae Maxim* на идентификацию и количественное определение содержания флавоноидов и аскорбиновой кислоты методом ВЭЖХ. Сравнительный анализ хроматограмм компонентов изучаемого препарата и стандартных образцов рутина, кверцетина и аскорбиновой кислоты показал, что в образцах экстракта *Padus Grayanae Maxim* содержание рутина составило 5,96 мг/л; кверцетина - 3,24 мг/л; аскорбиновой кислоты - 19,17 мг/л. Методика идентификации и установленные количественные параметры содержания флавоноидов и аскорбиновой кислоты могут быть использованы при разработке АНД для фитопрепарата Иммуназ.

**Keywords:** extract of *Padus Grayanae Maxim*, flavonoids, ascorbic acid, HPLC.

**Ключевые слова:** экстракт *Padus Grayanae Maxim*, флавоноиды, аскорбиновая кислота, ВЭЖХ.

### Введение

В связи с постоянно растущим спросом на препараты, обладающие иммуномодулирующим действием, одной из актуальных задач фармации и фармакологии является разработка иммуностропных средств растительного происхождения.

Ранее нами были определены фармакогностические и фитохимические показатели растительного лекарственного сырья для листьев *Padus Grayanae Maxim* [1,203; 2,18] и разработан фитопрепарат Иммуназ, представляющий собой водно-спиртовой экстракт из надземных частей *Padus Grayanae Maxim* с иммуномодулирующим действием [3,200].

Целью настоящего исследования явились идентификация и количественное определение содержания флавоноидов и аскорбиновой кислоты в аналитическом образце экстракта *Padus Grayanae Maxim*.

Объектом исследования служил экстракт *Padus Grayanae Maxim*, полученный из растительного сырья, собранного на территории Чуйской области Кыргызской Республики. Сырье заготовлено в период в июле месяце, в фазе максимального накопления действующих веществ [4,134].

Для достижения поставленной цели среди различных физико-химических методов, применяющихся для хроматографического разделения компонентов этанольных экстрактов растений, наиболее приемлемым является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектированием, вследствие его высокой чувствительности к различным соединениям, стабильности, нечувствительности к изменениям температуры и скорости потока, широкого линейного диапазона и предела обнаружения в несколько нанограммов [5, 152].

### Методы исследования.

Изучение содержания рутина, кверцетина и аскорбиновой кислоты в экстракте *Padus Grayanae Maxim* проводили методом обращеннофазовой высокоэффективной жидкостной

хроматографии с диодно-матричным детектированием на приборе Aligent 1200 (Agilent Technologies, США).

*Условия хроматографического анализа (рутин, аскорбиновая кислота):* колонка: ZorbaxEclipsePlus C18 5мкм. 250\*4,6 мм; подвижная фаза: ацетонитрил – водный раствор трифторуксусной кислоты с рН 2,7 (20:80); скорость подвижной фазы: 1,0 см<sup>3</sup>/мин; температура колонки: 25°С. Детектирование: УФ,  $\lambda = 240$  и 360 нм. Объем вводимой пробы: 10 мм<sup>3</sup>

*Условия хроматографического анализа (кверцетин):* колонка: ZorbaxEclipsePlus C18 5мкм, 250x4,6 мм; подвижная фаза: ацетонитрил – раствор трифторуксусной кислоты рН 2,7 (30:70); скорость подвижной фазы: 1.0 см<sup>3</sup>/мин; Температура колонки: 25°С. Детектирование: УФ,  $\lambda$  - 360 нм. Объем вводимой пробы: 10 мм<sup>3</sup>.

#### **Экспериментальная часть:**

*Подготовка пробы для анализа.* Экстракт *RadusGrayanaeMaxim* поместили на 20 минут в ультразвуковую баню. Затем пробу для ВЭЖХ анализа фильтровали через мембранный фильтр с диаметром 0,2 мкм и использовали для проведения анализа.

При проведении исследований были использованы следующие стандарты: рутина, кверцетина и аскорбиновой кислоты.

*Приготовление стандартного образца рутина.* Для приготовления стандартного образца рутина с концентрацией 10 мг/л (ppm) взвесили 0,05 г рутина и поместили в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, довели объем до метки метанолом. Из полученного раствора взяли аликвоту 0,5 мл и поместили в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, довели объем до метки метанолом. Растворы фильтровали через мембранный фильтр с диаметром 0,2 мкм и использовали для проведения анализа.

*Приготовление стандартного образца кверцетина.* Для приготовления стандартного образца кверцетина с концентрацией 10 мг/л (ppm) взвесили 0,05 г кверцетина и поместили в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, довели объем до метки метанолом. Из полученного раствора взяли аликвоту 0,5 мл и поместили в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, довели объем до метки метанолом. Растворы фильтровали через мембранный фильтр с диаметром 0,2 мкм и использовали для проведения анализа.

*Приготовление стандартного образца аскорбиновой кислоты.* Для приготовления стандартного образца аскорбиновой кислоты с концентрацией 10 мг/л (ppm) взвесили 0,05 г аскорбиновой кислоты и поместили в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, довели объем до метки этанолом. Из полученного раствора взяли аликвоту 0,5 мл и поместили в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, довели объем до метки этанолом. Растворы фильтровали через мембранный фильтр с диаметром 0,2 мкм и использовали для проведения анализа.

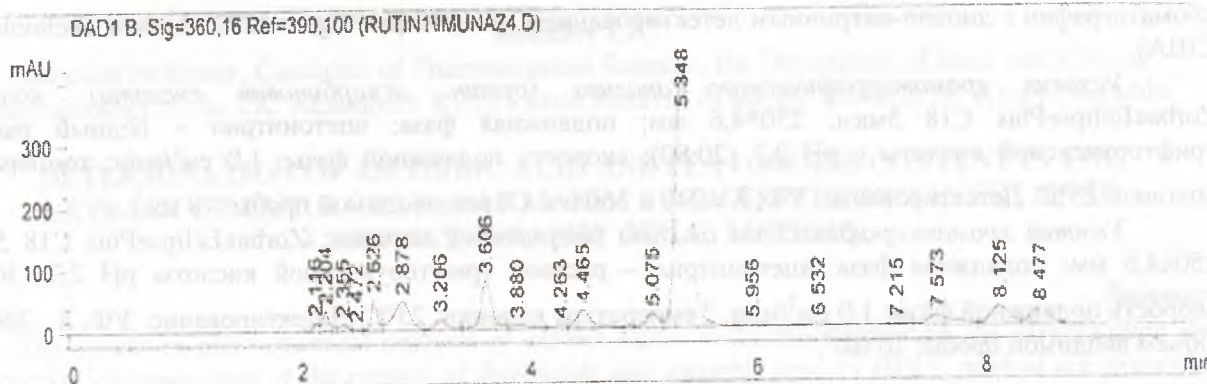
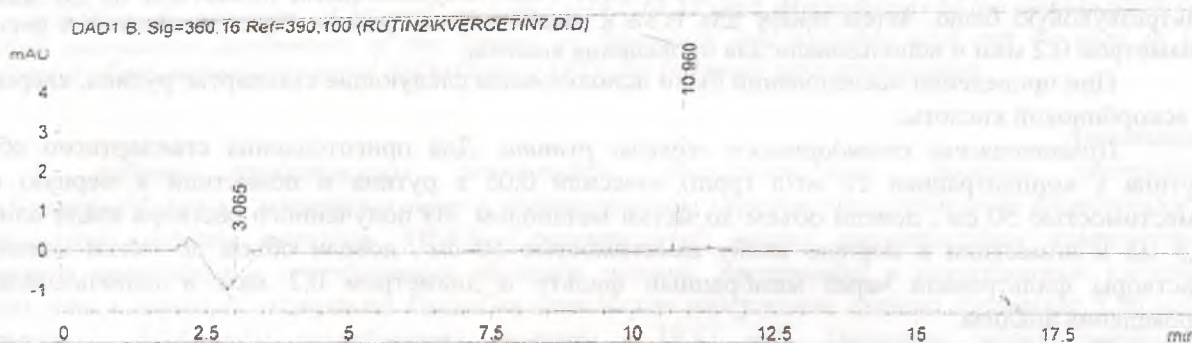
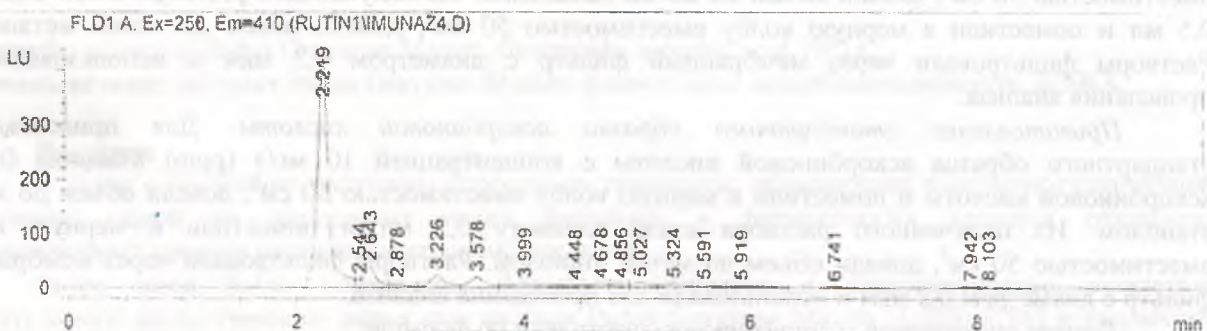
*Расчет содержания компонентов* осуществляли по формуле:

$$C_1 = C(S1 / S2)$$

где:  $C$  – концентрация соответствующего стандартного раствора, мг/см<sup>3</sup>;  $S1$  – площадь пика определяемого компонента в анализируемой пробе;

$S2$  – площадь пика определяемого компонента в стандартном образце.

Проведенное исследование в соответствии с результатами анализа показало содержание в образцах экстракта *RadusGrayanaeMaxim* рутина - 5,96 мг/л; кверцетина – 3,24 мг/л; аскорбиновой кислоты – 19,17 мг/л.

Рис. 1. Хроматограмма ВЭЖХ рутина в экстракте *Padus Grayanae Maxim*Рис. 2. Хроматограмма ВЭЖХ кверцетина в экстракте *Padus Grayanae Maxim*Рис. 3. Хроматограмма ВЭЖХ аскорбиновой кислоты в экстракте *Padus Grayanae Maxim*

Методика идентификации и установленные количественные параметры содержания флавоноидов и аскорбиновой кислоты в экстракте *Padus Grayanae Maxim* могут быть использованы при разработке АНД для фитопрепарата Иммуназ.

Результаты исследований также показали, что раствор изучаемого препарата содержит многочисленные пики, характерные для растительных экстрактов.

### Bibliography

1. Ismailov I.Z. Pharmacognosy and Phytochemistry *Padus Grayanae Maxim* // Central-Asian Medical Journal - Bishkek, 2003. - Volume IX. - P.201-203.
2. Ismailov I.Z. Microscopic characteristic of bird cherry leaves of Gray // Pharmacy. - Moscow, 2004. - № 2. - P. 16-18.
3. Ismailov I.Z., Zurdinova A.A. Phytopreparation of *Padus Grayanae Maxim* // Central Asian Medical Journal - Bishkek, 2003. - Volume IX. - P. 199 - 201.
4. Ismailov I.Z., Zurdinova A.A., Zurdinov A.Z., Sabirova T.S. // Dynamics of accumulation of biologically - active substances, depending on the vegetation period of *Padus Grayanae Maxim* Materials of the International Symposium on "Preservation and sustainable use of plant resources." - Bishkek, 2003. - P. 130-134.
5. Krasnov E.A., Blinnikova A.A. Modern chromatographic methods (GZhKh, VEZhKh) in pharmaceutical analysis. [Modern chromatography techniques (GLC, HPLC) analysis in the pharmaceutical]. Tomsk, 2007, 152 p. (In Russ.).