

На правах рукописи



Виницкая Елена Александровна

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
ФИТОКОМПОНЕНТОВ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В ЭКСТРАКТАХ
НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВ ЗВЕРОБОЙНЫЕ
(*HYPERICACEAE*), АСТРОВЫЕ (*ASTERACEAE*) И БОБОВЫЕ (*FABACEAE*)

1.4.2 – Аналитическая химия (химические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Краснодар
2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный университет»

Научный руководитель: **Темердашев Зауаль Ахлоович**
доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Боголицын Константин Григорьевич**
доктор химических наук, профессор,
зав. кафедрой теоретической и прикладной химии
ФГАОУ ВО «Северный (Арктический)
федеральный университет им. М.В. Ломоносова»

Ставрианиди Андрей Николаевич
кандидат химических наук, доцент кафедры
аналитической химии химического факультета
МГУ им. М.В. Ломоносова

Ведущая организация: ФГАОУ ВО «Самарский национальный
исследовательский университет имени академика
С.П. Королева»

Защита диссертации состоится 27 октября 2022 г. в 14–00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.320.05, созданного на базе ФГБОУ ВО «КубГУ», по адресу: 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, д. 149, ауд. 3030Л. С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «КубГУ», на сайтах ВАК Минобрнауки РФ <http://vak.ed.gov.ru> и ФГБОУ ВО «КубГУ» <http://www.kubsu.ru>

Отзывы на автореферат в двух экземплярах с указанием контактных данных, заверенные печатью организации, прошу направлять по адресу: 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, д. 149, Ученому секретарю диссертационного совета 24.2.320.05 Киселевой Наталии Владимировне.

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Киселева
Наталия Владимировна

Общая характеристика работы

Актуальность работы. Контроль качества и стабильности лекарственного растительного материала (ЛРС) семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*), препаратов на их основе является важной аналитической задачей в химии растительных материалов и отраслях, использующих получаемые из растений химические вещества и материалы. В состав экстрактов этих растений и препаратов на их основе входят биологически активные вещества - фитокомпоненты фенольной природы (ФС), принадлежащие различным классам и обуславливающие фармакологическую активность лекарственного растительного сырья: фенольные кислоты, флавоноиды, нафтодиантроны, флороглюцинолы (Зверобойные), фенилпропаноиды (Астровые) и изофлавоноиды (Бобовые). Компонентный состав и концентрация ФС определяют ценность, качество лекарственных растений. Важным и малоизученным аспектом являются взаимосвязи содержания ФС в экстрактах ЛРС от места произрастания и морфологической части растения, используемой для их экстракции.

Для определения ФС согласно Фармакопее РФ в растениях семейств Зверобойные, Астровые и Бобовые применяют методы суммарного определения флавоноидов, фенольных кислот и фенилпропаноидов. С другой стороны, для объективной оценки фармакологической активности лекарственного растительного сырья важно знать качественное и количественное содержание индивидуальных ФС, определяющих эти свойства.

Определение и идентификацию ФС в лекарственных растениях преимущественно осуществляют хроматографическими методами анализа (газовая и жидкостная хроматография) в совокупности с различными способами детектирования соединений (ИК, ЯМР, УФ и МС). Эти методы перспективны для определения фенольных соединений и идентификации ранее не установленных аналитов в составе лекарственных растений вышеперечисленных семейств. Лимитирующей стадией при хроматографическом определении ФС можно считать экстракцию компонентов. В зависимости от способа экстракции ФС меняется качественный и количественный состав извлечений растений, что усложняет оценку компонентного состава экстрактов. В литературе встречаются разрозненные публикации, иллюстрирующие эффективность различных способов экстракции компонентов из лекарственного сырья, что показывает на целесообразность развития подобного рода исследований.

Работа выполнялась в рамках проекта РФФИ (№ 20-33-90045) с использованием научного оборудования ЦКП “Эколого-аналитический центр” Кубанского госуниверситета.

Цель диссертационной работы – идентификация и хроматографическое определение фитокомпонентов фенольной природы, обуславливающих биологическую активность некоторых лекарственных растений семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*) в водных и водно-спиртовых экстракционных системах.

Для достижения поставленной цели **решали следующие задачи:**

- жидкостная экстракция обуславливающих биологическую активность ФС из лекарственных растений семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*);
- твердофазная экстракция ФС из водных и водно-спиртовых экстрактов лекарственных растений сорбентами различной природы, расчет их основных характеристик по отношению к этим анализам;
- идентификация и определение ФС в исследуемых растительных материалах;
- разработка методик ГХ-МС определения ФС в водных экстрактах исследуемых лекарственных растений;
- влияние географических и морфологических факторов на концентрацию ФС в экстрактах исследуемых лекарственных растений.

Научная новизна диссертационного исследования. Разработаны методики идентификации и хроматографического определения ФС в водных и водно-спиртовых экстрактах ЛРС семейств Зверобойные (зверобой продырявленный), Астровые (эхинацея пурпурная) и Бобовые (клевер луговой) в условиях различных способов их извлечения.

Получены основные сорбционные характеристики сорбентов различной природы для твердофазной экстракции ФС из водных и водно-спиртовых экстрактов изученных лекарственных растений. Предложен показатель качества и подлинности растительного материала по составу экстрактов ЛРС семейства Астровые и препаратов на его основе.

Выявлена зависимость содержания ФС в ЛРС семейств Астровые и Бобовые от ряда географических и морфологических факторов.

Практическая значимость работы. Оптимизированы условия извлечения ФС из ЛРС при их экстракции растворителем, ультразвуковой, микроволновой и субкритической экстракции, а также твердофазной экстракции с применением сорбентов различной природы.

Установлены условия хроматографического определения и идентификации ФС в водных и водно-спиртовых экстрактах ЛРС и элюатах различного состава.

Положения, выносимые на защиту:

- условия извлечения ФС из эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* L.), клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) и зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.);
- условия извлечения изофлавоноидов из различных морфологических частей *Trifolium pratense* L. и фенилпропаноидов из образцов *Echinacea purpurea* L. в зависимости от высоты их произрастания над уровнем моря;
- сорбционные характеристики материалов различной природы по отношению к ФС *Hypericum perforatum* L.;
- условия твердофазного извлечения и концентрирования ФС из экстрактов *Hypericum perforatum* L. с применением углеродных материалов;

– методика ГХ-МС определения ФС в водных экстрактах изученных лекарственных растений.

Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Достоверность результатов исследований обусловлена значительным объемом экспериментальных данных, научных положений и выводов, значимостью выборки анализируемого материала, использованием комплекса современных методов анализа при идентификации и определении ФС в экстрактах растений семейств *Hypericaceae*, *Asteraceae* и *Fabaceae* и статистической обработке полученных данных, согласованностью теоретически ожидаемых и экспериментально полученных данных.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы обсуждены на III – IV Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» с международным участием (Краснодар, 2017, 2020 гг.), V - VI Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием (Краснодар, 2018, 2021 гг.), II – III Всероссийской конференции по аналитической спектроскопии с международным участием (Краснодар, 2015, 2019 гг.), XXI Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, 2019 г.), IV Всероссийской молодежной научной конференции с международным участием «Экологобезопасные и ресурсосберегающие технологии и материалы» (Улан-Удэ, 2020 г.), XXVII международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2020» (Москва, 2020), VI Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых (Ростов-на-Дону, 2021 г.), XII международной конференции молодых ученых по химии «Менделеев 2021» (Санкт-Петербург, 2021 г.).

Публикации. По результатам исследований опубликованы 10 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus, а также 10 тезисов докладов в материалах научных конференций.

Личный вклад соискателя состоял в выполнении экспериментальных работ, систематизации и интерпретации полученных данных, подготовке докладов и выступлений на конференциях, практической апробации результатов. Формулировка целей и задач исследования, а также оформление публикаций выполнены совместно с научным руководителем.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, общих выводов, списка цитируемой литературы и приложений. Материал диссертации изложен на 174 страницах машинописного текста, содержит 45 рисунков и 36 таблиц, в списке цитируемой литературы 202 источника.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность и практическая значимость, сформулированы цели и задачи диссертационного исследования, сформулированы научная новизна и положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы проведена классификация и обобщены основные способы экстракции ФС из ЛРС семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*). Проанализированы литературные данные по идентификации и хроматографическому определению ФС в экстрактах эхинацеи пурпурной, зверобоя продырявленного и клевера лугового, сформулированы основные проблемы, связанные с их идентификацией в экстрактах исследуемых растений. Показана целесообразность использования твердофазной экстракции для идентификации и расширения компонентного состава растений, а также необходимость установления фальсификации растительного материала и препаратов на его основе.

В экспериментальной части указаны объекты исследования, реактивы и материалы, основное и вспомогательное научное оборудование, способы экстракции фитокомпонентов, а также условия их хроматографического определения в экстрактах растений семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*).

Объекты исследования: трава зверобоя продырявленного и клевера лугового («Травы Кавказа», Краснодарский край, г. Горячий Ключ); трава эхинацеи пурпурной различных торговых марок («Травы Кавказа», Краснодарский край, г. Горячий Ключ; «Фитофарм», Краснодарский край, г. Анапа; «Родные травы», республика Адыгея, ст. Севастопольская; «Травы Горного Крыма», республика Крым, Бахчисарайский р-н; «Емельяновская биофабрика», Новгородская область, Хвойнинский р-н). Также изучали лекарственные препараты на основе эхинацеи пурпурной: настойка эхинацеи (ООО «Тульская фармацевтическая фабрика»), сироп эхинацеи (ООО «Грин Сайд»), таблетки «Эхинацея VitaScience» (ООО «ВТФ»), биологически активная добавка к пище «Эхинацея П» (ООО «Парафарм»). Препараты исследовали при актуальном сроке их годности.

Твердофазную экстракцию ФС проводили с применением сорбентов Strata C18-E и Strata X (Phenomenex, США), Oasis HLB (Waters, США), HyperSep Hypercarb (Thermo, США) и Supelclean Envi-Carb (Supelco, США).

Для идентификации ФС использовали стандартные образцы 3,4-дигидроксibenзойной, хлорогеновой, неохлорогеновой, цикориевой и кофейной кислот, (-)-эпикатехина, рутина, гиперозида, изокверцитрина, кверцетина, кверцитрина, гиперидина, гиперфорина, дайдзеина, формонетина, генистеина и биоканина А (Sigma-Aldrich, Германия).

Исследования проводили на жидкостном хроматографе LC 20 Prominence (Shimadzu, Япония) со спектрофотометрическим детектором на основе диодной матрицы SPD-M20A и квадрупольным масс-спектрометром LCMS 2010 EV, газовом хроматографе с масс-спектрометрическим детектором GCMS-QP2010 Plus (Shimadzu,

Япония). Ультразвуковую экстракцию компонентов проводили в УЗ-ванне УЗВ-4.0/1 ТТЦ (Сапфир, Россия); микроволновую экстракцию – установке «ETNOS One» (Milestone, Италия); субкритическую экстракцию и десорбцию – специально собранной экспериментальной установке.

Использованные в экспериментальных исследованиях реактивы имели квалификацию «о.с.ч.» или «х.ч.».

В обсуждении результатов приведены данные по эффективности извлечения ФС из эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* L.), клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) и зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.). Обсуждены зависимости концентрации ФС в экстрактах растений от географических (высота произрастания над уровнем моря) и морфологических (морфологическая часть растения) факторов. Обсуждаются результаты исследований по выявлению показателя качества и подлинности ЛРС, базирующегося на соотношениях ФС в экстрактах ЛРС семейства Астровые и препаратах на его основе. Изучена возможность твердофазной экстракции ФС сорбентами различной природы, рассчитаны основные характеристики этих материалов по отношению к целевым соединениям. Обсуждена перспективность применения углеродных материалов для определения и идентификации ФС в экстрактах ЛРС. Изучены проблемы и условия хроматографического определения и идентификации ФС в экстрактах и элюатах ЛРС. Рассмотрена возможность применения твердофазной аналитической дериватизации ФС для последующего их ГХ-МС определения в водных экстрактах ЛРС.

Оценка эффективности извлечения ФС из ЛРС различными способами экстракции

Эффективность различных способов экстракции ФС, обуславливающих биологическую активность ЛРС различных семейств, оценивали с использованием одинаковых соотношений растительного сырья с экстрагентом, за исключением способа, прописанного в Государственной Фармакопее РФ. Суммарное и индивидуальное содержание фенольных веществ в экстрактах определяли хроматографически в оптимальных условиях для каждого вида ЛРС.

Экспериментальные исследования показали, что оптимальным экстрагентом для ФС эхинацеи пурпурной, клевера лугового и зверобоя продырявленного во всех способах, за исключением Фармакопее РФ, является 70%-ная водно-этанольная смесь. Показатели способа экстракции, прописанного в Фармакопее РФ, оказались сопоставимыми по эффективности с микроволновой и субкритической экстракцией по отношению к ФС эхинацеи пурпурной и зверобоя продырявленного (таблица 1). В условиях экстракционного способа Фармакопее РФ изофлавоноиды клевера лугового извлекаются не так эффективно. Это, по-видимому, связано с наличием в экстракционной системе разрушающей гликозидные связи соединений соляной кислоты, что, вероятно, приводит к ошибкам определения их нативных форм.

Таблица 1 – Содержание ФС в экстрактах эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* L.), клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) и зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.), мг/г (n=3, P=0.95)

Соединение	Способ извлечения			
	Фармакопея РФ	Микроволновая экстракция	Ультразвуковая экстракция	Субкритическая экстракция
<i>Эхинацея пурпурная (Echinacea purpurea L.)</i>				
Хлорогеновая кислота	0.29 ± 0.02	0.21 ± 0.03	0.15 ± 0.03	0.23 ± 0.03
Кофейная кислота	0.23 ± 0.03	0.18 ± 0.04	0.092 ± 0.008	2.4 ± 0.2
Рутин	0.34 ± 0.03	0.31 ± 0.02	0.24 ± 0.08	0.39 ± 0.02
Цикориевая кислота	15.0 ± 0.6	12.7 ± 1.3	8.3 ± 0.7	9.5 ± 0.7
Кафтаровая кислота	4.9 ± 0.2	4.2 ± 0.4	2.2 ± 0.2	5.2 ± 0.4
Суммарное содержание ФС*	26 ± 1	22 ± 2	13 ± 1	23 ± 2
<i>Клевер луговой (Trifolium pratense L.)</i>				
Дайдзеин	0.007 ± 0.001	0.014 ± 0.003	0.034 ± 0.005	0.015 ± 0.002
Генистеин	0.009 ± 0.002	0.031 ± 0.003	0.026 ± 0.003	0.033 ± 0.003
Формонетин	0.043 ± 0.009	0.129 ± 0.003	0.098 ± 0.007	0.210 ± 0.020
Биоканин А	0.041 ± 0.008	0.051 ± 0.005	0.032 ± 0.006	0.340 ± 0.050
Суммарное содержание ФС	0.100 ± 0.009	0.225 ± 0.009	0.190 ± 0.010	0.60 ± 0.03
<i>Зверобой продырявленный (Hypericum perforatum L.)</i>				
3,4-дигидроксibenзойная кислота	0.22 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.133 ± 0.008	0.208 ± 0.004
Неохлорогеновая кислота	2.3 ± 0.1	2.0 ± 0.1	1.63 ± 0.08	2.2 ± 0.1
Хлорогеновая кислота	1.15 ± 0.07	0.97 ± 0.06	0.85 ± 0.03	1.1 ± 0.1
(-)-эпикатехин	0.71 ± 0.07	0.7 ± 0.1	0.50 ± 0.06	0.88 ± 0.08
Рутин	13.9 ± 0.5	12.5 ± 0.6	9.9 ± 0.3	13 ± 1
Гиперозид	7.3 ± 0.4	6.8 ± 0.4	5.4 ± 0.1	7.3 ± 0.5
Изокверцитрин	2.6 ± 0.1	2.38 ± 0.04	1.9 ± 0.1	2.6 ± 0.1
Кверцитрин	1.48 ± 0.08	1.4 ± 0.2	1.15 ± 0.04	1.4 ± 0.1
Кверцетин	2.9 ± 0.2	2.8 ± 0.3	1.2 ± 0.1	3.3 ± 0.3
Фурогиперфорин	0.64 ± 0.05	1.0 ± 0.2	0.48 ± 0.03	0.7 ± 0.1
Гиперфорин	11.6 ± 0.9	10.9 ± 0.9	8 ± 2	13 ± 1
Адгиперфорин	1.9 ± 0.8	1.50 ± 0.03	1.3 ± 0.3	1.97 ± 0.04
Псевдогиперицин	0.51 ± 0.02	0.45 ± 0.05	0.26 ± 0.02	0.50 ± 0.03
Гиперицин	0.24 ± 0.03	0.25 ± 0.03	0.10 ± 0.01	0.25 ± 0.03
Суммарное содержание ФС	47 ± 3	44 ± 3	33 ± 4	48 ± 5

Примечание. * - в пересчете на цикориевую кислоту

В условиях *субкритического извлечения* ФС разных классов из растительного материала оптимально применение в качестве экстрагента 70%-ого этанола при 90 – 180°C в течении 20-25 мин. Результаты оценки эффективности извлечения ФС, содержащихся в водно-спиртовом экстракте эхинацеи пурпурной, при различных температурах представлены на рисунке 1.

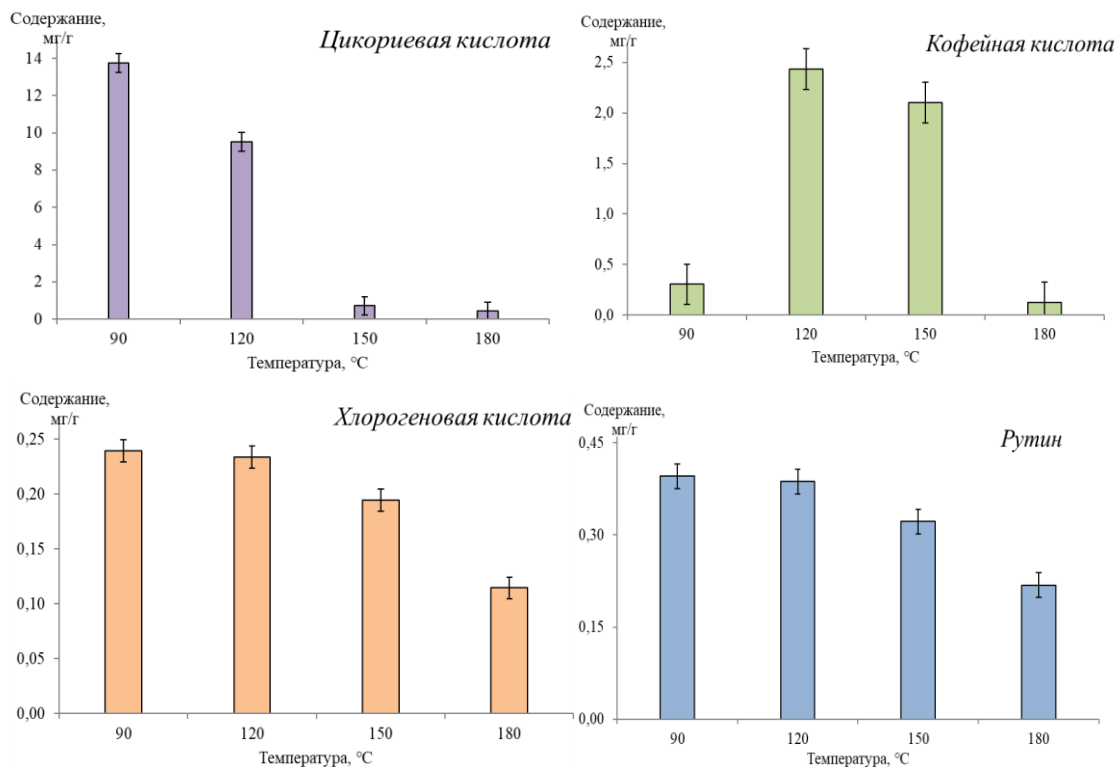


Рисунок 1 – Содержание ФС в 70%-ом водно-этанольном экстракте эхинацеи пурпурной в условиях субкритической экстракции

Цикориевая кислота (ЦК) максимально извлекалась при 90°C, но, при дальнейшем повышении температуры протекала ее деструкция. Извлекаемое количество хлорогеновой кислоты и рутина из эхинацеи пурпурной при 90 и 120°C соизмеримо. Наибольшее содержание кофейной кислоты в экстракте наблюдали при 120°C. Суммарный баланс извлекаемых ФС при 90 и 120°C в пересчете на ЦК оказался равным, а соотношение индивидуальных соединений в экстракте различным.

Субкритическая экстракция ФС из зверобоя продырявленного по эффективности оказалась сопоставимой с *фармакопейным способом* и *микроволновой экстракцией*, а количество извлекаемого гиперфорина, (-)-эпикатехина и кверцетина выше.

Для клевера лугового наибольшее суммарное содержание ФС достигали *субкритической экстракцией* при 120°C, но концентрация дайдзеина в этих условиях, как и при *микроволновой экстракции*, оказалась почти в два раза меньше, чем при *ультразвуковой экстракции*.

Микроволновая экстракция ФС по своей эффективности сопоставима с *субкритической экстракцией* для всех изученных растительных образцов. В отношении некоторых индивидуальных соединений, например, фуругиперфорина,

микроволновая экстракция показала максимальные степени их извлечения по сравнению с альтернативными способами. Данный факт, по-видимому, можно объяснить трансформацией гиперфорина в процессе микроволнового воздействия. Для извлечения изофлавоноидов (формононетина и биоканина А), напротив, микроволновая экстракция уступала в эффективности субкритическому способу.

Экстракция ФС под действием ультразвука оказалась менее эффективной по сравнению с остальными для всех исследуемых образцов. Но нужно отметить, что данный способ позволил экспрессно оценить качественный состав компонентов экстрактов ЛРС.

Анализ полученных данных (таблица 1) позволил заключить, что выбор способа экстракции ФС зависит от поставленных конкретных аналитических, а иногда и технологических задач.

Влияние географических и морфологических факторов на содержание ФС в экстрактах ЛРС

В оптимальных условиях извлечения изучили влияние географических (высота произрастания растения над уровнем моря) и морфологических (морфологическая часть растения) факторов на содержание ФС в экстрактах ЛРС.

Влияние морфологического фактора на содержание ФС в водно-спиртовых экстрактах клевера лугового установили сравнением концентрации изофлавоноидов, выделенных ультразвуковой экстракцией из различных морфологических частей растения (таблица 2). Как видно, максимальная концентрация изофлавоноидов наблюдалась в экстракте соцветий клевера лугового.

Таблица 2 – Содержание изофлавоноидов в водно-этанольных экстрактах разных морфологических частей клевера лугового (*Trifolium pratense* L.), мг/г (n=3, P=0.95)

Часть растения	Соединение				Суммарное содержание изофлавоноидов
	Дайдзеин	Генистеин	Формононетин	Биоканин А	
Соцветия	0.034 ± 0.005	0.026 ± 0.003	0.098 ± 0.007	0.032 ± 0.006	0.190 ± 0.010
Листья	0.003 ± 0.002	0.013 ± 0.002	0.021 ± 0.001	0.033 ± 0.001	0.070 ± 0.006
Стебли	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.022 ± 0.004

Влияние географического фактора на содержание ФС в экстрактах ЛРС оценивали на примере водно-спиртовых экстрактов эхинацеи пурпурной, полученных при их микроволновой экстракции из произрастающих на различных территориях растений (таблица 3).

Таблица 3 – Содержание ФС в водно-спиртовых экстрактах эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* L.), произрастающей на различных территориях и полученных микроволновой экстракцией, мг/г (n=3, P=0.95)

Тип образца	Образец	Место произрастания	Высота над уровнем моря, м	Соединение					Суммарное содержание ФС *	ЦК/КФР
				Хлорогеновая кислота	Кофейная кислота	Рутин	Цикориевая кислота	Кафтаровая кислота		
чай	Травы Горного Крыма	респ. Крым, высокогорье Демерджи	325-1200	0.034 ± 0.002	0.119 ± 0.012	0.51 ± 0.04	6.60 ± 0.24	2.24 ± 0.11	11.6 ± 0.4	2.9
	Емельяновская биофабрика	Новгородская область, Хвойнинский р-н, деревня Емельяновское	164	0.046 ± 0.002	0.4 ± 0.2	0.25 ± 0.07	16.5 ± 0.6	4.93 ± 0.02	24.5 ± 0.8	3.3
трава растения	Фитофарм	Краснодарский край, г. Анапа	32	0.033 ± 0.001	0.26 ± 0.17	0.236 ± 0.002	9.2 ± 0.8	3.10 ± 0.13	16 ± 1	3
	Родные травы	Адыгея, ст. Севастопольская	420	0.075 ± 0.002	0.5 ± 0.3	0.33 ± 0.02	20.7 ± 0.2	7.57 ± 0.2	34.7 ± 0.7	2.7
	Травы Кавказа	Краснодарский край, г. Горячий Ключ	58	0.21 ± 0.03	0.18 ± 0.04	0.31 ± 0.02	12.7 ± 1.3	4.2 ± 0.4	22 ± 2	3

Примечание. * - в пересчете на цикориевую кислоту

Суммарное содержание фенилпропаноидов оказалось минимальным в образцах эхинацеи пурпурной производителя «Травы Горного Крыма», максимальным – образце «Родные Травы». Максимальное суммарное содержание ФС в пересчете на ЦК наблюдали в образце «Родные Травы», выращенном на высоте 420 м над уровнем моря. Установили, что суммарное содержание ФС в экстрактах эхинацеи повышается с увеличением высоты над уровнем моря места его произрастания. Отличающуюся закономерность наблюдали для образца чая «Травы Горного Крыма», обусловленную, возможно, рядом факторов: нарушением условий хранения, сроков сбора сырья, добавлением иных трав и др.

Отметим, что концентрации индивидуальных ФС в водно-спиртовых экстрактах собранных на различных территориях образцов эхинацеи пурпурной, разнятся. С другой стороны, соотношение концентраций цикориевой кислоты к кафтаровой кислоте (ЦК / КФР) в экстрактах 70%-ого спирта оставалось постоянным и было близко к 3 (таблица 3). Данное соотношение постоянно в отобранных на различных территориях образцах сырья эхинацеи пурпурной, поэтому посчитали возможным его использование в качестве *показателя качества и подлинности растительного сырья* эхинацеи. В образцах травы эхинацеи пурпурной производителей «Фитофарм» и «Травы Кавказа» данное соотношение составило 3, а образцах чая производителей «Травы Горного Крыма» и «Емельяновская биофабрика» - 2.9 и 3.3 соответственно. Наибольшее содержание цикориевой и кафтаровой кислот в водно-спиртовых экстрактах наблюдали в образце производителя «Родные Травы», но показатель ЦК / КФР оказался равным 2.7.

С учетом предложенного показателя проанализировали промышленно выпускаемые препараты и БАДы на основе эхинацеи пурпурной (таблица 4). Т.к. в большинстве образцов отсутствовали данные по содержанию целевых и вспомогательных веществ, сопоставление концентраций активных компонентов проводили в пересчете на общую массу таблетки или объем раствора.

Таблица 4 – Содержание ФС в водно-спиртовых извлечениях лекарственных препаратов и БАДов на основе эхинацеи пурпурной, мг/г (n=3, P=0.95)

Соединение	Лекарственный препарат			
	БАД “Эхинацея П”	Настойка Эхинацеи	Сироп Эхинацеи	Таблетки “VitaScience”
хлорогеновая кислота	0.057 ± 0.009	0.0037 ± 0.0002	0.0020 ± 0.0003	0.020 ± 0.012
кофейная кислота	0.044 ± 0.016	0.023 ± 0.003	0.010 ± 0.002	0.30 ± 0.04
рутин	0.160 ± 0.014	0.0510 ± 0.0003	0.0016 ± 0.0002	0.063 ± 0.018
цикориевая кислота	4.304 ± 0.6	1.139 ± 0.011	0.094 ± 0.026	4.0 ± 1.0
кафтаровая кислота	1.837 ± 0.7	0.70 ± 0.04	0.115 ± 0.024	4.2 ± 1.5
суммарное содержание ФС*	7.5 ± 1.4	2.47 ± 0.05	0.28 ± 0.07	11 ± 3
суммарное содержание окикоричных кислот *	6.3 ± 1.3	1.89 ± 0.05	0.27 ± 0.01	9 ± 2.5
ЦК / КФР	2.8	1.5	0.8	1.1

Примечание. * - в пересчете на цикориевую кислоту

Наибольшее содержание оксикоричных кислот в пересчете на ЦК содержал препарат «Эхинацея VitaScience» и БАД «Эхинацея П». Низкие концентрации оксикоричных кислот наблюдали в жидких формах препаратов: сиропе и настойке. Как видно из данных таблицы 4, показателю качества растительного сырья эхинацеи пурпурной и препаратов на её основе соответствовал только БАД «Эхинацея П».

Твердофазная экстракция фенольных веществ из водных и водно-спиртовых экстрактов зверобоя продырявленного

Концентрации большого количества аналитов в экстрактах ЛРС зачастую находятся ниже пределов определения, а иногда и обнаружения, используемых методик. В этих случаях прибегали к методам их концентрирования, например, твердофазной экстракции, которую чаще всего применяют для очистки экстрактов перед хроматографическими исследованиями. Для оценки возможности расширения спектра ФС в экстрактах ЛРС изучили характеристики ряда сорбентов в отношении ФС лекарственного сырья.

В качестве объекта исследования для оптимизации твердофазной экстракции и расчета сорбционных характеристик материалов выбрали зверобой продырявленный, содержащий в своем составе широкий спектр ФС. Концентрирование ФС из водных экстрактов зверобоя продырявленного проводили на сорбентах с привитыми октадецильными группами Strata C18-E, полимерных сорбентах Strata X и Oasis HLB, а также углеродных материалах HyperSep Hypercarb и Supelclean ENVI-Carb. Для этого рассчитывали сорбционные характеристики материалов по отношению к аналитам на основе выходных динамических кривых сорбции (ВДКС), используя для сорбции ФС водные экстракты зверобоя (таблица 5).

Сорбенты на основе октадецилсиликагеля оказались достаточно эффективными для извлечения группы флавоноидов и их гликозидов, а полимерные материалы - флавоноидов и фенольных кислот. Степени извлечения фенольных кислот и флавоноидов при коэффициенте концентрирования 5 на сорбенте Strata C18-E составили 27-40% и 79-105% соответственно. Сорбентом Strata X достигается концентрирование в 5 раз при степенях извлечения 106-107% для фенольных кислот и 99-122% для флавоноидов. На сорбенте Oasis HLB возможно концентрирование фенольных кислот в 20 раз при степенях извлечения 74-96% и 32 раза для флавоноидов при степенях извлечения в диапазоне 56-91%.

Таблица 5 – Основные сорбционные характеристики сорбентов Strata C18-E, Strata X и Oasis HLB по отношению к некоторым ФС зверобоя продырявленного (pH = 2, n = 5, S_r ≤ 0.6)

Соединение	Параметр	V _R , мл	V _B , мл	σ _V , мл	σ _{V'} , мл	V _E , мл	N	K	R, %	ДЕ × 10 ⁻⁶ , моль/г
Strata C18-E										
3,4-дигидроксибензойная кислота		0.9	0.1	0.4	0.5	2	3	5	27 ± 2	0.033 ± 0.001
Неохлорогеновая кислота		1.3	0.3	0.5	0.8	3	4		40 ± 5	0.27 ± 0.03
Хлорогеновая кислота		2.2	0.4	0.9	1.4	5	3.5		30 ± 4	0.18 ± 0.03
(-)-эпикатехин		2.5	0.4	1	1	5	4		90 ± 1	0.22 ± 0.02
Рутин		4	0.7	0.6	0.3	11	38		99 ± 12	1.9 ± 0.2
Гиперозид		5	0.6	0.6	0.5	13	61		98 ± 14	0.9 ± 0.1
Изокверцитрин		5	0.6	0.6	0.5	13	61		105 ± 9	0.31 ± 0.05
Кверцитрин		5	0.6	0.6	0.5	13	61		79 ± 14	0.20 ± 0.04
Strata X										
3,4-дигидроксибензойная кислота		6	5	1	1	8	30	5	106 ± 5	1.7 ± 0.4
Неохлорогеновая кислота		6	4	1	1	7	30		106 ± 6	3.7 ± 0.4
Хлорогеновая кислота		8	5	1	1	10	56		107 ± 7	2.6 ± 0.5
(-)-эпикатехин		9	6	2	1	11	16		99 ± 3	2.2 ± 0.2
Рутин		13	3	5	3	18	4		105 ± 3	9.5 ± 1.1
Гиперозид		14	6	4	2	23	9		106 ± 5	12 ± 1
Изокверцитрин		14	6	4	3	23	9		107 ± 8	4.3 ± 0.6
Кверцитрин		16	6	5	7	30	7		112 ± 13	2.6 ± 0.5
Oasis HLB										
3,4-дигидроксибензойная кислота		13	9	2	2	17	36	20	74 ± 5	2.3 ± 0.7
Неохлорогеновая кислота		11	9	1.3	2.3	16	63		96 ± 6	8 ± 3
Хлорогеновая кислота		15	7	4	5	25	10		77 ± 2	2.03 ± 0.07
(-)-эпикатехин		18.5	12.5	3	3.8	26	32		68 ± 2	4.1 ± 0.4
Рутин		26	17	4.8	2	30	24	32	56 ± 7	19 ± 3
Гиперозид		30	18	6.3	4.8	40	18		64 ± 14	26 ± 3
Изокверцитрин		31	19	5.8	5	41	23		91 ± 10	11.7 ± 1.3
Кверцитрин		35	19	8.3	6.8	49	14		59 ± 6	4.56 ± 0.01

Примечание. V_R – объем удерживания; V_B – объем «до проскока»; V_E – равновесный объем; σ_V и σ_{V'} – стандартные отклонения на выходной динамической кривой сорбции; N – число теоретических тарелок; K – коэффициент концентрирования; R – степень извлечения; ДЕ – динамическая емкость сорбента

*Возможность концентрирования фенольных соединений
из водных экстрактов зверобоя продырявленного углеродными сорбентами*

Для углеродных материалов строили ВДКС флавоноидов и фенольных кислот (рисунок 2), по которым рассчитали сорбционные характеристики Supelclean ENVI-Carb по отношению к ФС зверобоя (таблица 6). Отметим характерный "подъем" кривой выше значения $C/C_0 = 1$, который, по-видимому, связан с вытеснением слабоудерживаемых аналитов более сильно удерживаемыми компонентами образца.

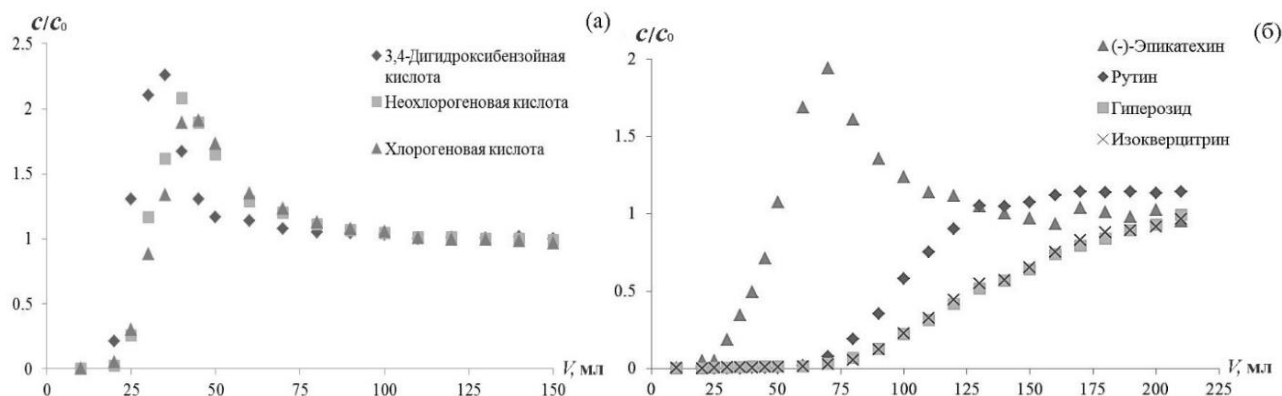


Рисунок 2 - ВДКС фенолкарбоновых кислот (а), флавоноидов и их гликозидов (б) из водных экстрактов зверобоя продырявленного на сорбенте Supelclean ENVI-Carb

Таблица 6 – Основные сорбционные характеристики Supelclean ENVI-Carb по отношению к ФС водного экстракта зверобоя ($pH = 5$, $n = 3$, $S_r \leq 0.3$)

Соединение	Параметр					
	V_R , мл	V_B , мл	σ_V , мл	σ_V' , мл	V_E , мл	ДЕ $\times 10^{-6}$ моль/г
3,4-Дигидроксибензойная кислота	25	15	5	5	26	1.0 ± 0.2
Неохлорогеновая кислота	29	20	4	5	31	4.1 ± 0.4
Хлорогеновая кислота	28	21	3	4	32	1.8 ± 0.3
(-)-Эпикатехин	39	18	10	7	49	1.6 ± 0.2
Рутин	95	60	18	19	121	35 ± 4
Гиперозид	95	64	32	41	215	23 ± 2
Изокверцитрин	124	70	27	49	218	9.0 ± 1.3

Примечание. V_R – объем удерживания; V_B – объем «до проскока»; V_E – равновесный объем; σ_V и σ_V' – стандартные отклонения на ВДКС; ДЕ – динамическая емкость сорбента

Десорбцию аналитов проводили в двух системах: 1 – фенолкарбоновые кислоты и (-)-эпикатехин; 2 – флавоноиды. Для десорбции аналитов применяли метанол, ацетонитрил, а также их смесь с добавлением изопропилового спирта (90 : 5 : 5, по объему) (МАИ). Степень извлечения флавоноидов оказалась наиболее высокой при использовании смеси МАИ, по сравнению с ацетонитрилом и метанолом (таблица 7).

Таблица 7 – Степени извлечения фенолкарбоновых кислот и флавоноидов различными растворителями с сорбента Supelclean ENVI-Carb, % ($n = 3$, $S_r \leq 0.3$)

Соединение	Растворитель		
	Ацетонитрил	Метанол	МАИ
3,4-Дигидроксibenзойная кислота	22.1 ± 1.2	62 ± 3	86 ± 4
Неохлорогеновая кислота	0.56 ± 0.03	3.3 ± 0.2	7.2 ± 1.0
Хлорогеновая кислота	5.3 ± 0.3	15.7 ± 0.8	22.4 ± 1.3
(-)-Эпикатехин	6.4 ± 0.3	9.7 ± 0.5	10.8 ± 0.5
Рутин	0.67 ± 0.03	1.13 ± 0.06	2.42 ± 0.12
Гиперозид	0.39 ± 0.02	0.264 ± 0.013	2.41 ± 0.12
Изокверцитрин	0.239 ± 0.012	0.53 ± 0.03	2.60 ± 0.13
Кверцитрин	7.4 ± 0.4	7.7 ± 0.4	25 ± 6

Наибольшее извлечение ФС с углеродного сорбента достигали десорбцией смесью МАИ в субкритических условиях. Основной вклад в эффективность десорбции вносит температура процесса, которую оптимизировали в диапазоне 90 – 180°C для флавоноидов и 90 – 150°C для фенолкарбоновых кислот. Зависимости степени извлечения содержащихся в экстракте зверобоя ФС от температуры десорбции для флавоноидов, фенолкарбоновых кислот и (-)-эпикатехина при их концентрировании в шесть раз приведены на рисунке 3.

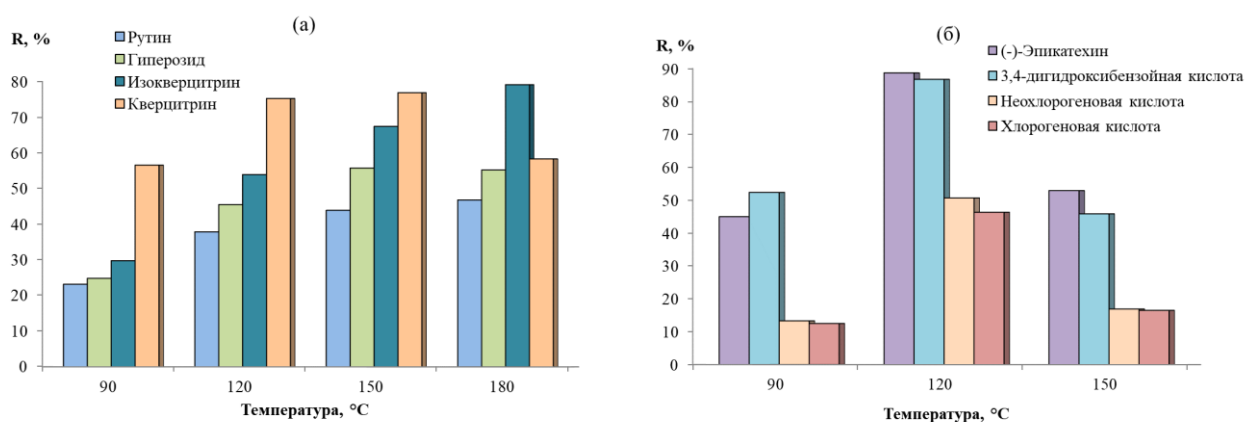


Рисунок 3 – Зависимость степени извлечения флавоноидов (а), (-)-эпикатехина и фенолкарбоновых кислот (б) с сорбента Supelclean ENVI-Carb от температуры десорбции

Оптимальные условия извлечения фенолкарбоновых кислот и флавоноидов с углеродного сорбента Supelclean ENVI-Carb наблюдали при десорбции в субкритических условиях при 120°C смесью МАИ. В этих условиях на хроматограммах элюатов обнаружили незарегистрированные ранее в экстрактах и элюатах с других сорбентов хроматографические пики. С учетом литературных данных их соотнесли с представителями фенольных кислот и флавоноидов: о,п-кумароилхинные кислоты (m/z 337), мангиферин (m/z 421), изомеры дикофеилхинных кислот (m/z 515), сагериновая кислота (m/z 719) и др. Твердофазная экстракция

аналитов углеродным сорбентом в субкритических условиях позволила концентрировать, извлекать и идентифицировать новые соединения.

Твердофазное извлечение флороглюцинолов и нафтодиантронов из водно-спиртовых экстрактов зверобоя прорыявленного

Рассмотрели возможность твердофазной экстракции различными сорбентами флороглюцинолов и нафтодиантронов из водно-спиртового экстракта зверобоя. ВДКС гиперфорина и адгиперфорина не имели отчетливой S-образной формы на полимерном сорбенте (рисунок 4, а) по сравнению с углеродным (рисунок 4, б), но начальный участок ВДКС на сорбенте Strata X позволил рассчитать их сорбционные характеристики.

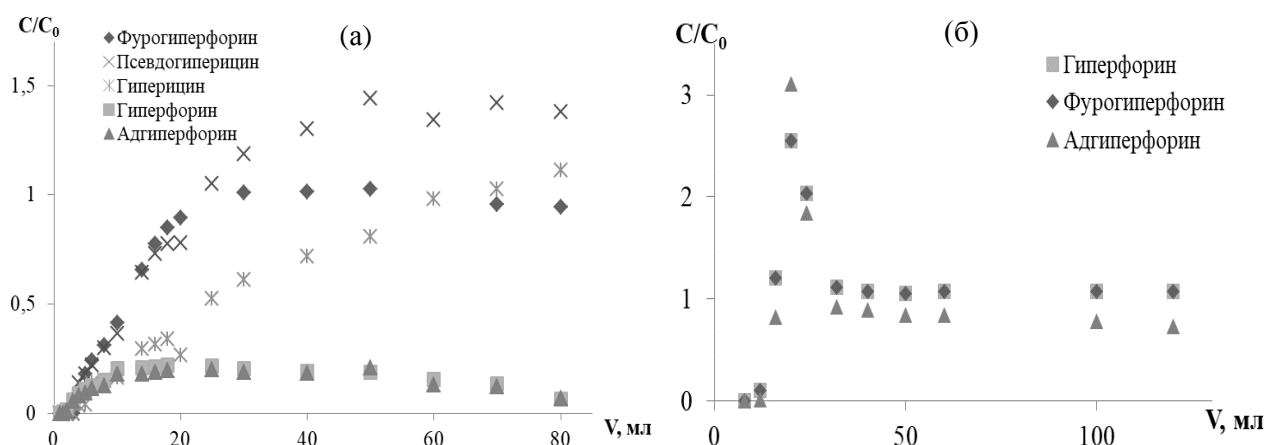


Рисунок 4 – ВДКС флороглюцинолов и нафтодиантронов на сорбентах Strata X (а) и Supelclean ENVI-Carb (б)

Десорбцию анализов с сорбентов Strata X и Oasis HLB проводили ацетонитрилом, с сорбента Supelclean ENVI-Carb – смесью МАИ в субкритических условиях (таблица 8). Выявили, что нафтодиантроны (гиперин и псевдогиперин) необратимо сорбируются в силу своей физико-химической природы на сорбентах, а флороглюцинолы количественно извлекались сорбентами Supelclean ENVI-Carb и Oasis HLB.

Таблица 8 – Степень извлечения флороглюцинолов с различных сорбентов, % ($K = 3$, $S_r \leq 0.5$)

Соединение	Сорбент		
	Supelclean ENVI-Carb	Strata X	Oasis HLB
Фурогиперфорин	91 ± 2	8.7 ± 1.7	81 ± 6
Гиперфорин	83 ± 27	н.о.	95 ± 7
Адгиперфорин	87 ± 16	н.о.	105 ± 4

Примечание. н.о. – не обнаружено

ГХ-МС определение ФС в водных экстрактах ЛРС

После оптимизации условий твердофазной экстракции аналитов разработали методику ГХ-МС определения ФС в водных экстрактах ЛРС, которая сочетала в себе оптимизированные по отношению к ФС условия твердофазной экстракции и аналитической дериватизации. Оптимизацию твердофазной аналитической дериватизации проводили с использованием водного экстракта зверобоя продырявленного, сорбента Strata C18-E и силилированием фенольных веществ N,O-Бис(триметилсилил)трифторацетамидом (БСТФА). Контроль содержания ФС в элюате при сорбции аналитов проводили с помощью ВЭЖХ-ДМД системы в оптимизированных для ЛРС условиях (рисунок 5).

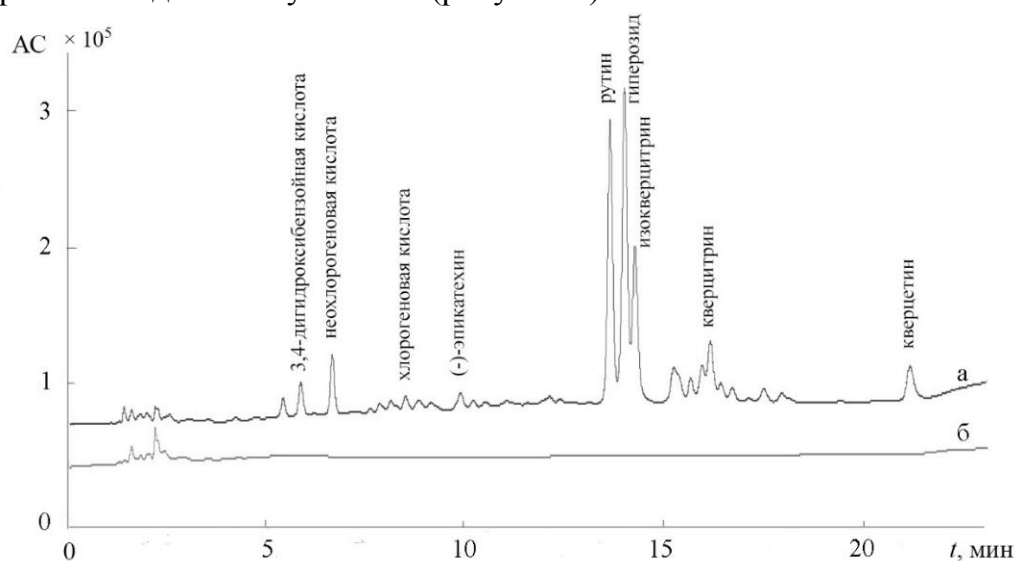


Рисунок 5 – Хроматограммы исходного (а) и пропущенного через сорбент Strata C18-E (б) водного экстракта зверобоя продырявленного

Влияние *температуры* на дериватизацию ФС изучали в диапазоне 40-70°C. Для фенольных и коричневых кислот дериватизация протекала успешно при 40°C. Для подавляющего числа триметилсилильных (ТМС) производных ФС, в том числе идентифицированных кумароилхинных (3-О-, 4-О- и 5-О-кумароилхинная) и кофеилхинных (3-О- и 5-О-кофеилхинная) кислот оптимальными условиями проведения реакции оказался диапазон 50-60°C. В этих условиях наблюдали стабильность интенсивности сигналов компонентов. Для *para*-гидроксибензойной и феруловой кислот, а также флавоноидов инкубация сорбента при 60°C оказалась оптимальной. Для обнаруженных в элюатах ТМС производных пальмитиновой и стеариновой кислот приемлемой оказалась более высокая температура (70°C), при которой наблюдали резкое возрастание интенсивности сигнала их ТМС производных.

Оптимальное *время* инкубации сорбента Strata C18-E с БСТФА при твердофазной аналитической дериватизации компонентов устанавливали в диапазоне от 5 до 40 мин. Концентрации производных соединений в зависимости от времени инкубации сорбента оказались различными (рисунок 6). Для качественной оценки компонентного состава водных экстрактов зверобоя продырявленного достаточно

инкубирования сорбента в течение 15 мин, т.к. более продолжительная инкубация сорбента не влияла на качественный состав элюатов.

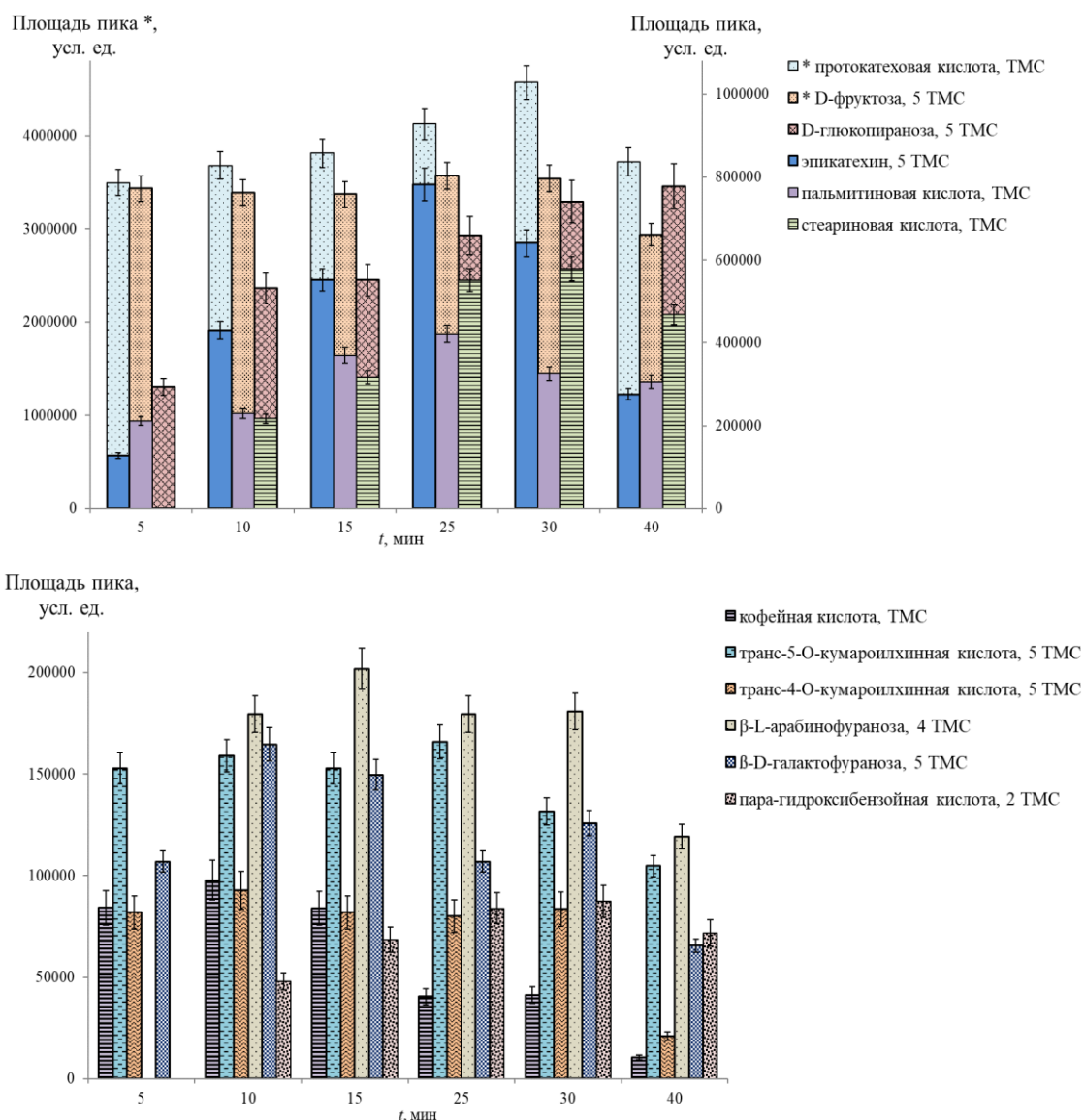
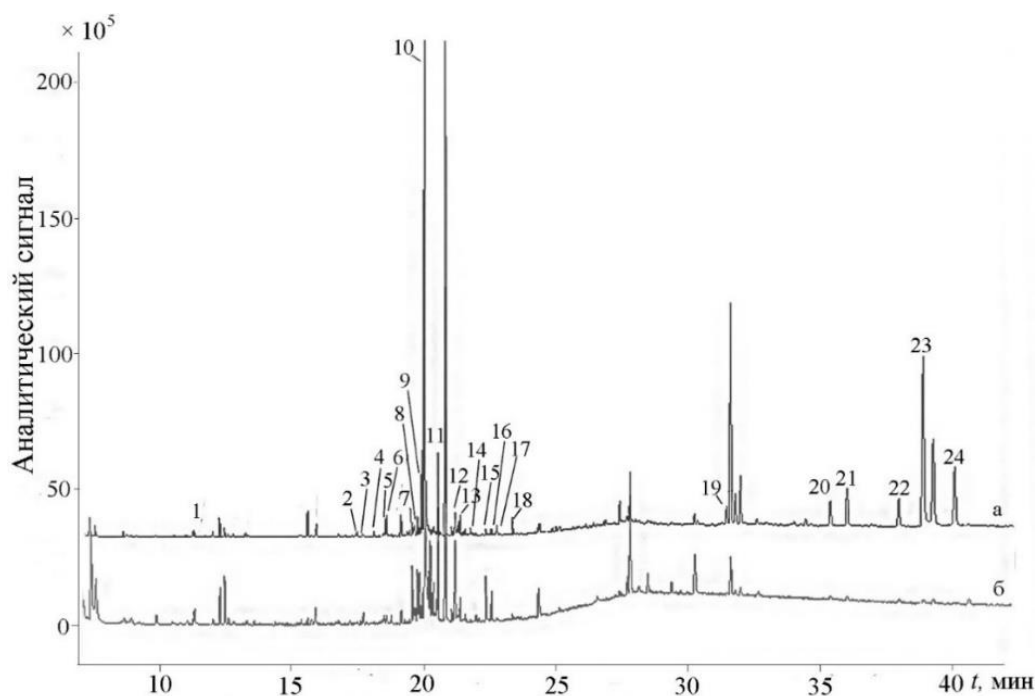


Рисунок 6 – Зависимость площади хроматографических пиков компонентов водного экстракта зверобоя продырявленного от времени инкубации сорбента

Компонентный состав элюатов с сорбента Strata C18-E, полученный после сорбции водного экстракта зверобоя при pH 2 и 5 оказался разным (рисунок 7). В полученном с помощью водного экстракта с pH 2 элюате идентифицировали 3 ТМС флороглюцинол, 2 ТМС салициловую и ТМС феруловую кислоты, которые не были зарегистрированы на хроматограммах элюатов водного экстракта зверобоя с pH 5. Флороглюцинол и его производные не регистрировали на ВЭЖХ-ДМД хроматограммах в водных экстрактах зверобоя, что, по-видимому, объясняется эффектом их концентрирования на сорбенте Strata C18-E. Изменение pH водного экстракта с 5 до 2 расширяет качественный состав экстрактов зверобоя продырявленного за счет перевода ФС в их молекулярную форму.



1 – бензойная кислота, ТМС; 2 – салициловая кислота, 2 ТМС; 3 – *para*-гидроксибензойная кислота, ТМС; 4 – флороглюцинол, 3 ТМС; 5 – γ -резорциловая кислота, 3 ТМС; 6 – β -L-арабинопираноза, 4 ТМС; 7 – рамноза, 4 ТМС; 8 – D-рибофураноза, 4 ТМС; 9 – протокатеховая кислота, ТМС; 10 - D-фруктоза, 5 ТМС; 11 – D-ксилофураноза, 4 ТМС; 12 – галловая кислота, 3 ТМС; 13 – пирогаллолкарбоновая кислота, 4 ТМС; 14 – α -рамноза, 4 ТМС; 15 – пальмитиновая кислота, ТМС; 16 – глюконовая кислота, 6 ТМС; 17 – феруловая кислота, 2 ТМС; 18 – кофейная кислота, ТМС; 19 – эпикатехин, 5 ТМС; 20 - *транс*-4-O-кумароилхинная кислота, 5 ТМС; 21 - *транс*-3-O-кумароилхинная кислота, 5 ТМС; 22 - *транс*-5-O-кофеилхинная кислота, 6 ТМС; 23 – кверцетин, 5 ТМС; 24 - *транс*-3-O-кофеилхинная кислота, 6 ТМС

Рисунок 7 – Хроматограмма элюата водного экстракта зверобоя продырявленного с рН 2 (а) и 5 (б) с сорбента Strata C18-E

Анализ полученных результатов позволил заключить, что методика ГХ-МС определения ФС с твердофазной аналитической дериватизацией позволяет идентифицировать и определять аналиты в водных экстрактах лекарственных растений различных семейств.

ВЫВОДЫ

1. Изучена экстракция фитокомпонентов фенольной природы растительных материалов семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*) различными экстракционными системами (Фармакопея РФ, микроволновая экстракция, ультразвуковая экстракция, субкритическая экстракция, твердофазная экстракция). Субкритическая экстракция и Фармакопейный способ оказались наиболее эффективными при извлечении ФС - для эхинацеи пурпурной (23 и 26 мг/г), клевера лугового (0.6 и 0.1 мг/г) и зверобоя продырявленного (48 и 47 мг/г), соответственно. По суммарному содержанию аналитов в экстрактах микроволновая экстракция ФС сопоставима с субкритической, а в отношении ряда индивидуальных соединений она показала максимальные степени их извлечения.

2. Изучено влияние географических (высота произрастания растения над уровнем моря) и морфологических (морфологическая часть растения) факторов на содержание ФС в водно-спиртовых экстрактах лекарственных растений. С увеличением высоты произрастания ЛРС над уровнем моря повышается концентрация ФС в водно-спиртовых экстрактах. Суммарное содержание фенилпропаноидов в пересчете на цикориевую кислоту в эхинацеи пурпурной минимально в образцах производителя «Травы Горного Крыма» (325-1200 м над уровнем моря) (11.6 мг/г), максимально – образце «Родные Травы» (420 м над уровнем моря) (34.7 мг/г). Наибольшее накопление изофлавоноидов в водно-спиртовом экстракте клевера лугового наблюдали в соцветиях растений (0.190 мг/г).

3. Предложен показатель качества и подлинности ЛРС семейства Астровые и препаратов на его основе, как соотношение цикориевой и кафтаровой кислот, который, вне зависимости от места произрастания ЛРС, близок к 3. Оценка содержания ФС в водно-спиртовых экстрактах промышленно изготавливаемых препаратов на основе эхинацеи пурпурной показала, что предложенному показателю соответствовала только БАД «Эхинацея П».

4. Рассчитаны сорбционные характеристики (объемы «до проскока», удерживания и насыщения, динамические емкости сорбентов и степени извлечения аналитов) сорбентов различной природы (Strata C18-E, Strata X, Oasis HLB, Supelclean ENVI-Carb) по отношению к ФС, содержащимся в водном экстракте зверобоя продырявленного. Сорбент на основе октадецилсиликагеля Strata C18-E показал наибольшую эффективность извлечения группы флавоноидов и их гликозидов ($R = 79-105\%$), а флавоноиды и фенольные кислоты лучше извлекались полимерными материалами Strata X ($R = 99-112\%$) и Oasis HLB ($R = 56-96\%$).

5. Оценена возможность применения углеродных сорбентов для извлечения и концентрирования фенолкарбоновых кислот, флавоноидов и флороглюцинолов из водных и водно-спиртовых экстрактов зверобоя продырявленного. Наибольшую степень извлечения аналитов достигали десорбцией в субкритических условиях

смесью метанол:ацетонитрил:изопропиловый спирт (90:5:5). В условиях концентрирования аналитов на углеродных сорбентах и их десорбции в субкритических условиях идентифицированы новые ФС (о,п-кумароилхинные кислоты, мангиферин, изомеры дикофеилхинных кислот и сагериновая кислота), расширившие качественный состав элюатов.

6. Разработана методика ГХ-МС определения ФС с использованием твердофазной аналитической дериватизации в водных экстрактах лекарственных растений. Оптимизированы условия проведения твердофазной аналитической дериватизации ФС: сорбент – Strata C18-E, дериватирующий агент – БСТФА, температура инкубации сорбента – 50-60°C, время инкубации сорбента – 30 мин. С использованием разработанной методики в водных экстрактах зверобоя продырявленного идентифицированы 24 соединения.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Chromatographic analysis of water and water-alcohol extracts of *Echinacea purpurea* L. obtained by various methods / Z. Temerdashev, **Е. Vinitzkaya**, E. Meshcheryakova [et al.] // *Microchemical Journal*. – 2022. – Vol. 179. – art.107507.

2. Темердашев З.А. Газохроматомасс-спектрометрическое определение фенольных соединений в водных экстрактах *Hypericum perforatum* L. с использованием твердофазной аналитической дериватизации / З.А. Темердашев, **Е.А. Витницкая**, В.В. Коробкова // *Журнал аналитической химии*. – 2022. – Т. 77, № 11.

3. Temerdashev Z. The method of establishing the authenticity and quality of *Hypericum perforatum* L. and *Salvia officinalis* L. / Z. Temerdashev, V. Milevskaya, **Е. Vinitzkaya** // *MethodsX*. – 2021. – Vol. 8. – art. 101487.

4. Оценка содержания изофлавоноидов в клевере луговом (*Trifolium pratense* L.) из семейства бобовые (*Fabaceae*) в условиях экстракции различными способами / З.А. Темердашев, Т.К. Чубукина, **Е.А. Витницкая** [и др.] // *Журнал аналитической химии*. – 2021. – Т. 76, № 9. – С. 819-831. [Assessment of the concentrations of isoflavonoids in red clover (*Trifolium pratense* L.) of the *Fabaceae* family using extraction by different methods / Z.A. Temerdashev, T.K. Chubukina, **Е.А. Vinitzkaya**. [et al.] // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2021. – Vol. 76, № 9. – P. 1071-1082.]

5. Концентрирование углеродными сорбентами фенольных соединений и их хроматографическое определение в водных экстрактах лекарственных растений / З.А. Темердашев, **Е.А. Витницкая**, В.В. Милевская [и др.] // *Журнал аналитической химии*. – 2021. – Т. 76, № 3. – С. 208-217. [Temerdashev Z.A. Preconcentration of phenolic compounds on carbon sorbents and their chromatographic determination in aqueous extracts of medicinal plants / Z.A. Temerdashev, **Е.А. Vinitzkaya**., V.V. Milevskaya [et al.] // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2021. – Vol. 76, № 3. – P. 296-3305.]

6. Stability of some biologically active substances in extracts and preparations based on St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.) / Z. Temerdashev, V. Milevskaya, O. Shpigun, **Е. Vinitzkaya** [et al.] // *Industrial Crops & Products*. – 2020. – Vol. 156. – art.112879.

7. Твердофазное концентрирование фенольных соединений из водных экстрактов лекарственных растений семейств Зверобойные и Яснотковые на сорбентах

различной природы / З.А. Темердашев, **Е.А. Веницкая**, В.В. Милевская [и др.] // Аналитика и контроль. – 2020. – Т. 24, № 2. – С. 86-95.

8. Сорбционные характеристики сорбентов для твердофазной экстракции фенольных соединений из экстрактов лекарственных растений / **Е.А. Шилько (Веницкая)**, В.В. Милевская, З.А. Темердашев [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2019. – Т. 19, № 2. – С. 157-167.

9. Твердофазное концентрирование фенольных веществ из водных экстрактов лекарственного растительного сырья на примере зверобоя (*Hypericum perforatum* L.) / **Е.А. Шилько (Веницкая)**, В.В. Милевская, З.А. Темердашев [и др.] // Аналитика и контроль. – 2018. – Т. 22, № 3. – С. 303-314.

10. Экстракция и определение биологически активных компонентов зверобоя и препаратов на его основе / В.В. Милевская, М.А. Статкус, З.А. Темердашев, **Е.А. Шилько (Веницкая)** [и др.] // Журнал аналитической химии. – 2016. – Т. 71, № 7. – С. 768-774. [Extraction and determination of biologically active components of St. John's Wort and its pharmaceutical preparations / V. V. Milevskaya, M. A. Statkus, Z. A. Temerdashev, **E. A. Shil'ko (Vinitzkaya)** [et al.] // Journal of Analytical Chemistry. – 2016. – Vol. 71, № 7. – P. 741-747.]

11. Vinitzkaya E.A. Influence of the extraction method on the component composition of the phenolic nature of water-alcoholic extracts *Echinacea purpurea* L. / **Е.А. Vinitzkaya**, Т.К. Chubukina, Е.Е. Meshcheryakova // XII International Conference on Chemistry for Young Scientists “MENDELEEV 2021”. - 2021. - P. 105.

12. Чубукина Т.К. Изучение некоторых способов экстракции основных изофлавоноидов соцветий клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) / Т.К. Чубукина, **Е.А. Веницкая**, В.В. Милевская // Химия: достижения и перспективы. - Ростов-на-Дону. - 2021. - С. 282-285.

13. Веницкая Е.А. Характеристики способов извлечения фенилпропаноидов из водно-спиртовых экстрактов эхинацеи пурпурной *Echinacea purpurea* L. для последующего их хроматографического определения / **Е.А. Веницкая**, З.А. Темердашев, Е.Е. Мещерякова // VI Всероссийский симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии». - Краснодар. - 2021. - С. 199.

14. Веницкая Е.А. Возможность применения сорбента Supelclean ENVI-Carb для извлечения и хроматографического определения фенольных соединений в экстрактах лекарственных растений / **Е.А. Веницкая**, З.А. Темердашев, Е.Е. Мещерякова // XXVII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020». - Москва. - 2020. - С. 24.

15. Чубукина Т.К. Хроматографическое определение нестероидных соединений в составе лекарственных растений семейства *Fabaceae* / Т.К. Чубукина, **Е.А. Веницкая**, В.В. Милевская // XXVII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020». - Москва. - 2020. - С. 149.

16. Веницкая Е.А. Сорбционно-хроматографическое определение некоторых фенольных соединений *Hypericum perforatum* L. / **Е.А. Веницкая**, В.В. Милевская, А.Н. Степакова // IV Всероссийская молодежная научная конференция с международным участием «Экологобезопасные и ресурсосберегающие технологии и материалы». Улан-Удэ. - 2020. - С. 104-106.

17. Веницкая Е.А. Сравнительный анализ сорбционных характеристик различных твердофазных материалов для извлечения некоторых фенольных соединений из экстрактов зверобоя (*Hypericum perforatum* L.) / Е.А. Веницкая, З.А. Темердашев, Е.Е. Мещерякова // IV Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» с международным участием. - Краснодар. - 2020. - С. 160.

18. Возможность применения углеродного сорбента для извлечения фитокомпонентов из лекарственного растительного материала / Е.А. Шилько (Веницкая), В.В. Милевская, З.А. Темердашев [и др.] // V Всероссийский симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием. - Краснодар. – 2018. – С. 56.

19. Субкритическая экстракция водой и хроматографическое определение активных компонентов различных классов лекарственного растительного сырья / В.В. Милевская, Е.А. Шилько (Веницкая), Л.П. Рябоконт [и др.] // V Всероссийский симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием. - Краснодар. – 2018. – С. 156.

20. Оптимизация условий извлечения веществ фенольного ряда из экстрактов лекарственного растительного сырья при их хроматографическом определении / Е.А. Шилько (Веницкая), В.В. Милевская, З.А. Темердашев [и др.] // III Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» с международным участием. – Краснодар. – 2017. – С. 98.

Автор выражает глубокую признательность к.х.н., доценту В.В. Коробковой, к.х.н., СИС ФГБОУ ВО “МГУ им. М.В. Ломоносова” М.А. Статкусу, а также сотрудникам УНПК «Аналит» и кафедры аналитической химии за оказанную помощь и поддержку в проведении диссертационного исследования.

Веницкая Елена Александровна

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
ФИТОКОМПОНЕНТОВ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В ЭКСТРАКТАХ НЕКОТОРЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВ ЗВЕРБОЙНЫЕ (*HYPERICACEAE*),
АСТРОВЫЕ (*ASTERACEAE*) И БОБОВЫЕ (*FABACEAE*)

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Подписано в печать 05.08.2022 г.

Формат 60×84^{1/16}. Бумага офсетная. Печать цифровая.

Уч.-изд. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 4953.2

Издательско-полиграфический центр

Кубанского государственного университета
350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149.