



Dildora BARAKAYEVA,

Toshkent davlat agrar universiteti tayanch doktoranti

E-mail: barakayevadildora70@gmail.com

Nuriddin MUKARRAMOV,

O'zR FA, S.Yu. Yunusov nomidagi O'simlik moddalari kimyosi instituti katta ilmiy xodimi, k.f.d

E-mail: mnuriddin@rambler.ru

Salima ARIPOVA,

O'zR FA, S.Yu. Yunusov nomidagi O'simlik moddalari kimyosi instituti proffessori, k.f.d

E-mail: salima_aripova@mail.ru

Toshkent davlat agrar universiteti dotsenti, k.f.n L.Yu Jamolova taqrizi asosida

DEVELOPMENT OF A PROMISING HPLC METHOD FOR STANDARDIZATION OF RESIN *FERULA TADSHIKORUM*

Annotation

Fast, simple, accurate, specific and reliable method of HPLC have been developed and proposed, which can be used for the analysis of ferulic acid in plant extracts. The HTLC method is economical because it uses a very small number of mobile phases that effectively dissolve ferulic acid, and the sample cleaning procedure associated with it is minimal. The developed method can be widely used to determine the quality of *Ferula tadshikorum* resin and compositions containing it.

Key words: HPLC methods, resin, *Ferula tadshikorum* Pimenov., ferulic acid.

FERULA TADSHIKORUM SMOLASINI ISTIQBOLLI YUSSX USULI YORDAMIDA STANDARTLASHTIRISH

Annotatsiya

O'simlik ekstraktlaridan ferula kislotasini tahlil qilish uchun YuSSX usullarining tez, sodda, aniq, o'ziga xos va ishonchli usuli ishlab chiqilgan. Taklif qilingan va ishlab chiqilgan metod yordamida *Ferula tadshikorum* smolasi tarkibini aniqlashda keng qo'llash mumkin.

Kalit so'zlar: YuSSX metodi, smola, *Ferula tadshikorum* Pimenov, ferula kislotasi.

РАЗРАБОТКА ПЕРСПЕКТИВНОГО ВЭЖХ МЕТОДА СТАНДАРТИЗАЦИИ СМОЛЫ *FERULA TADSHIKORUM*

Аннотация

Разработан и предложен быстрый, простой, точный, специфичный и надежный методы ВЭЖХ, который может быть использован для анализа феруловой кислоты в растительных экстрактах. Метод экономичен, поскольку в нем используется очень небольшое количество подвижных фаз, эффективно растворяющих феруловую кислоту, а процедура очистки образца, связанная с ним, минимальна. Разработанный метод может быть широко использован для определения качества смолы *Ferula tadshikorum* и составов, содержащих её.

Ключевые слова: ВЭЖХ методы, смола, *Ferula tadshikorum* Pimenov., феруловая кислота.

Введение. *Ferula tadshikorum* Pimenov – многолетнее, монокарпичное, сильно и неприятно пахнущее травянистое растение семейства сельдерейных (зонтичные) – *Apiaceae (Umbelliferae)*, большой жизненный цикл осуществляется за 23-27 (30) лет. Произрастает в среднем поясе гор в южных регионах Республики – в Кашкадарьинской и Сурхандарьинской областях [1-3]. Лекарственным сырьем является как подземная (затвердевший на воздухе млечный сок корней), так и надземная части растения. Химический состав затвердевшего млечного сока корней представлен смолой (9,35-65,15%), камедью (12-48%) и эфирным маслом 5,8-20%). Из смолы выделены: феруловая кислота, ассарезинотанол, ассарезинол и их феруловые производные: фарнезиферол С и умбеллиферон [4-5].

Из литературных данных известно, что на Востоке используется как пряность смола фетида ("вонючая смола"), получаемая из свежих корней ферулы путём подсежки. В настоящее время промышленные заготовки этой смолы, которая тоннами идёт на экспорт как пряность в Индию, Иран, Пакистан, Афганистан, приводят к истощению запасов этих растений.

В Центральной Азии применяют камедь-смолу в качестве глистогонного, инсектицидного, противосудорожного средства, а также при некоторых нервных заболеваниях и вирусных заболеваниях половой системы [6]. Из всего многообразия известных видов активности ферул перспективным направлением использования в медицине является их противовоспалительная, антипаразитарная, а именно противоямблиозная активности. Известно, что лямблиоз – широко распространенное заболевание, особенно у детей. Исследования в этом плане представляются перспективными именно для региона Центральной Азии. Наиболее перспективными в этом плане являются спиртовые экстракты и смола *F. tadshikorum*.

В последние годы Президентом Республики Узбекистан принят ряд постановлений и Указов о необходимости создания научно-технических проектов по глубокой переработке растений рода ферула и других лекарственных трав, в том числе культивируемых в республике, для разработки и создания на их основе новых лекарственных препаратов, а также о мерах по созданию в республике плантаций ферулы, увеличению объёма переработки их сырья и экспорта с

целью обеспечения выпуска необходимых для медицины и сельского хозяйства лекарственных средств путём переработки ферулы-сырца.

В целях выполнения задач, предусмотренных в постановлениях Президента РУз, разработан проект и получен грант на основе химических компонентов, а именно терпеноидов видов растений рода *Ferula* флоры РУз и выявленной биологической активности разработка технологии и подготовка к внедрению ряда эффективных лекарственных средств для медицины, а также разработка современного метода стандартизации смолы *F. tadshikorum*, экспортируемой за рубеж. Результаты исследований по данной проблеме имеют прикладное значение, служат основой для практического освоения растительных ресурсов и прежде всего для создания лекарственных средств медицинского профиля. Целью настоящего исследования является разработка метода стандартизации создаваемого препарата с помощью метода ВЭЖХ [7-8]. В качестве стандарта использована феруловая кислота, содержащаяся в корнях и в смоле растения. Феруловая кислота была обнаружена в ряде растений: рис (0,9%), пшеница (0,66%), ячмень (0,14%), цитрусовых фруктах, овощах, ягодах. В отрубях кукурузы ее содержание достигает 3,1% в пересчете на сухой материал [9]. Феруловая кислота в растениях на 70% присутствует в виде транс-изомера (рис.1).

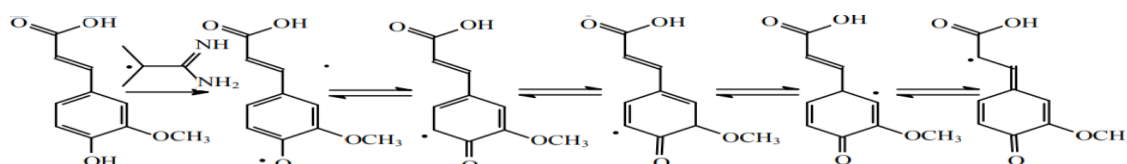


Рис.1. Структурные формулы феруловой кислоты и резонансные формы ее фенокисильного радикала

Определение феруловой кислоты проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием внешнего стандарта. Предварительно проводили калибровку прибора по стандарту (рис.2).

Приготовление раствора испытуемого образца. 10 мг (точная навеска) массы испытуемого препарата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляют 10 мл метилового спирта и перемешивают в ультразвуковом аппарате в течение 10 минут, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Экспериментальная часть. Условия хроматографирования: для исследования приготовили по 10 мл испытуемого метанольного раствора смолы в концентрации 1 мг/мл и стандартной феруловой кислоты 1 мг/мл, которые подвергли ВЭЖХ анализу на хроматографе Shimadzu с УФ-детектором при длине волны 320 нм. В результате на хроматограмме образцов была идентифицирована феруловая кислота, время удерживания которой совпадало с временем удерживания стандартного образца феруловой кислоты и составляло 4,6 мин.

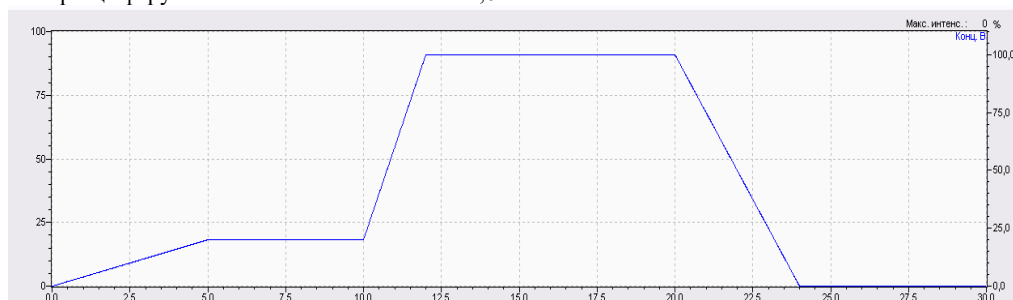


Рис. 2. Диаграмма: градиентные условия для подвижной фазы

Растворитель А – метанол

Растворитель В – ацетонитрил : (вода : муравьиная кислота)

Время анализа – 30 мин.

Температура колонки – комнатная температура

Скорость потока – 0,5 мл/мин

Объем вводимой пробы – 20 мкл

Допускается наличие других пиков

Колонку уравнивают раствором А до достижения стабильной базовой линии. Для этого через колонку пропускают элюент в течение 30 минут со скоростью 0,5 мл/мин. Три образца *F. tadshikorum* собраны с корней вегетирующего растения с интервалом в 1 месяц.

Обсуждение результатов

Образец 1 – смола *F. tadshikorum* первого урожая (июль месяц); образец 2 – смола второго урожая (август месяц); образец 3 – смола третьего урожая (сентябрь месяц). Анализ феруловой кислоты и образцов смолы *F. tadshikorum* и их хроматограмма представлены в таблице и на рисунке 3.

таблица-1

Результаты анализа феруловой кислоты и образцов смолы *F. tadshikorum*

№	Образец	Время удерживания	Площадь	Высота
1	Стандарт-1	4,58	937404	3201
2	Стандарт-2	4,98	891932	2543
3	Стандарт-3	4,47	1022065	2602
4	Образец-1	4,65	209273	19057
5	Образец-2	4,73	177946	23034
6	Образец-3	4,74	186517	20102



Рис. 3. Хроматограмма феруловой кислоты и образца смолы *Ferula tadshikorum*

Заключение. Разработанный метод ВЭЖХ может быть широко использован для контроля качества смолы *F. tadshikorum* и составов, содержащих ее. Таким образом, разработан современный ВЭЖХ качественный и количественный метод определения феруловой кислоты в смоле корней растения *F. tadshikorum*, произрастающей в Узбекистане.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коровин Е.П. Сем. Зонтичные. Флора Узбекской ССР. Ташкент, 1959. Т. 4. С. 459.
2. Махмудов А.В. *Ferula tadshikorum* Pimenov. Красная книга Республики Узбекистан. – Ташкент. 2019. Т. 2. – С. 95-96.
3. Минович В.М., Горячкина Е.Г., Бочарова Г.И., Федосеева Г. Лекарственные растения, включенные в Красную книгу: учебное пособие // ФГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава РФ, кафедра фармакогнозии и ботаники. Иркутск: ИГМУ, 2016. 70 с.
4. Перельсон М.Е. и др. //Химия природных соединений. 1976. №. 5. С. 593-599.
5. Sharopov F.S. et al. //Records of Natural Products. 2019. Vol. 13. №. 1. P. 18- 23.
6. Gonzalez A.G., Barrera J.B. //Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe /Progress in the Chemistry of Organic Nat. Products. Springer, Vienna, 1995. P.1- 92.
7. Стасевич О.В., Лихтарович Е.С., Шемет С.Н. //Труды БГТУ, 2014, № 4. Химия, технология органических веществ и биотехнология. С. 200-203.
8. Власова Е.В., Мотылева С.М., Мертвищева М.Е.. //Физиология и биохимия растений. Том 55, 2018. С.106-111.
9. Mathew S., Abraham T. E. Ferulic acid: an antioxidant found naturally in plant cell walls and feruloyl esterases involved in its release and their applications // Critical Reviews in Biotechnology. 2004. Vol. 24, No. 2/3. P. 59–83.
10. Graf E. Antioxidant potential of ferulic acid // Free Radical Biology & Medicine. 1992. Vol. 13. P. 435–448.
11. Saulnier L., Vigouroux L., Thibault J. F. Isolation and partial characterization of feruloylated oligosaccharides from maize bran // Carbo-hydr. Res. 1995. Vol. 272. P. 241–253.