



Аналитические возможности жидкостного хроматографа МаэстроВЭЖХ на примере определения морина, кверцетина, кемпферола в экстракте листьев грецкого ореха

*Яшин А. Я. к. х. н., ведущий инженер отдела исследований и разработок, ООО Интерлаб, Россия, Москва*

#### Ключевые слова

Жидкостная хроматография, флавоноиды, морин, кверцетин, кемпферол, детектор на диодной матрице, экстракт листьев грецкого ореха

#### Резюме

Показаны аналитические возможности МаэстроВЭЖХ на примере определения морина, кверцетина, кемпферола. Рассчитаны СКО по высотам и площадям для каждого компонента. Определено содержание морина, кверцетина, кемпферола в экстракте листьев грецкого ореха

## Введение

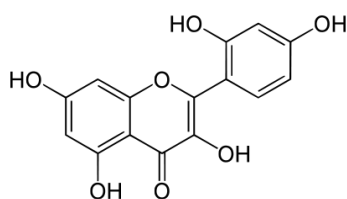
Лекарственные средства растительного происхождения нашли широкое применение в современной медицине. К ним относят настойки, эликсиры, бальзамы и др. Одним из важнейших классов действующих соединений, содержащихся в лекарственном растительном сырье, являются флавоноиды.

Интерес к флавоноидам очень велик в связи с их широким спектром биологического воздействия и антиоксидантной активностью. В настоящее время огромное внимание уделяется поиску оптимальных путей использования флавоноидов в интересах укрепления здоровья людей, профилактики и лечения различных заболеваний, вызванных или сопровождающихся усилением свободнорадикальных процессов окисления.

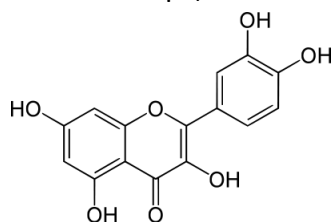
К основным функциям морина, кверцетина и кемпферола относятся: антиоксидантное, противоотечное, спазмолитическое, антигистаминное, противовоспалительное, диуретическое, противоязвенное и многое другое, а также снижение проницаемости стенок капилляров; повышение тонуса сосудов; апоптоз раковых клеток.

В организме человека кверцетин, как морин и кемпферол, не вырабатывается. К основным источникам флавоноидов природного происхождения в основном относятся ягоды и фрукты.

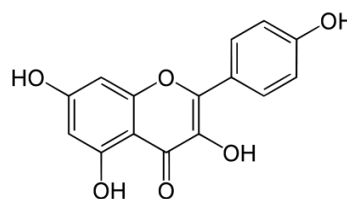
Морин



Кверцетин



Кемпферол



## Экспериментальная часть

*Для анализа использовали чистые вещества фирмы Fluka:*

Для анализа использовали чистые вещества фирмы Fluka:

Морин гидрат, 99%

Кверцетин дигидрат, 99%

Кемпферол, 99%

*Инструменты:*

Жидкостный хроматограф «МаэстроВЭЖХ» с детектором на диодной матрице

Колонка Leapsil C18 2.7 мкм 100 x4.6 мм

Подвижная фаза 2,2 мМ НЗРО4 : ацетонитрил (60:40)

Скорость потока 0.5 мл/мин

Длина волны 254 нм

## Результаты и обсуждения

Подобраны хроматографические условия для разделения морина, кверцетина, кемпферола

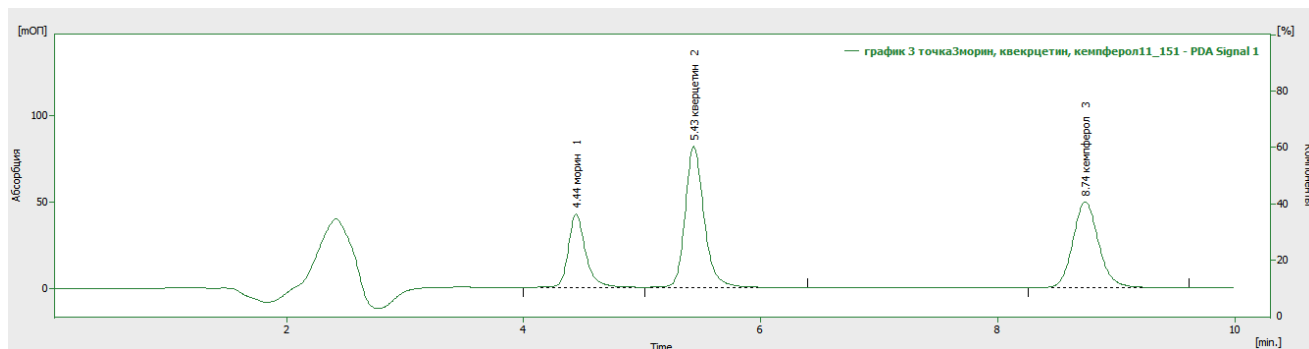


Таблица результатов

	Время удерживания [мин]	Площадь [мОП.сек]	Высота [мОП]	Название вещества
1	4.440	431.060	42.549	морин
2	5.433	909.152	81.613	кверцетин
3	8.740	751.691	49.767	кемпферол

Проведена проверка стабильности системы. Рассчитаны СКО по временам удерживания, высотам и площадям для каждого компонента. Для этого образец вводился 6 раз.

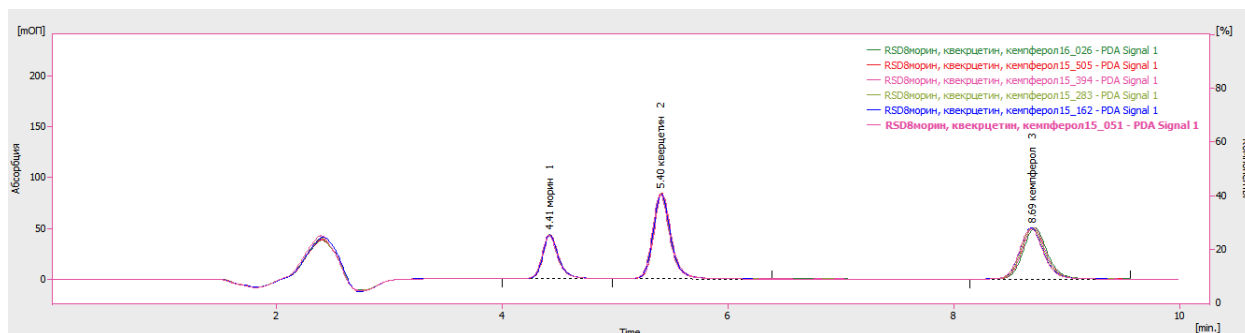


Таблица параметров для проверки стабильности системы (для компонента – Морин)

Хроматограмма	Время удерживания [мин]	Площадь [мОП.сек]	Высота [мОП]
Среднее значение	4.422	430.672	43.217
СКО %	0.16	0.40	0.33
1	4.427	429.213	42.996
2	4.427	431.649	43.353
3	4.427	431.762	43.169
4	4.413	430.388	43.260
5	4.427	432.790	43.379
6	4.413	428.229	43.145

Таблица параметров для проверки стабильности системы (для компонента – Кверцетин)

Хроматограмма	Время удерживания [мин]	Площадь [мОП.сек]	Высота [мОП]
Среднее значение	5.411	919.360	83.817
СКО %	0.15	0.27	0.31
1	5.413	918.315	83.572
2	5.420	920.139	84.179
3	5.420	921.560	83.851
4	5.407	920.967	83.946
5	5.407	920.384	83.890
6	5.400	914.796	83.466

Таблица параметров для проверки стабильности системы (для компонента – Кемпферол)

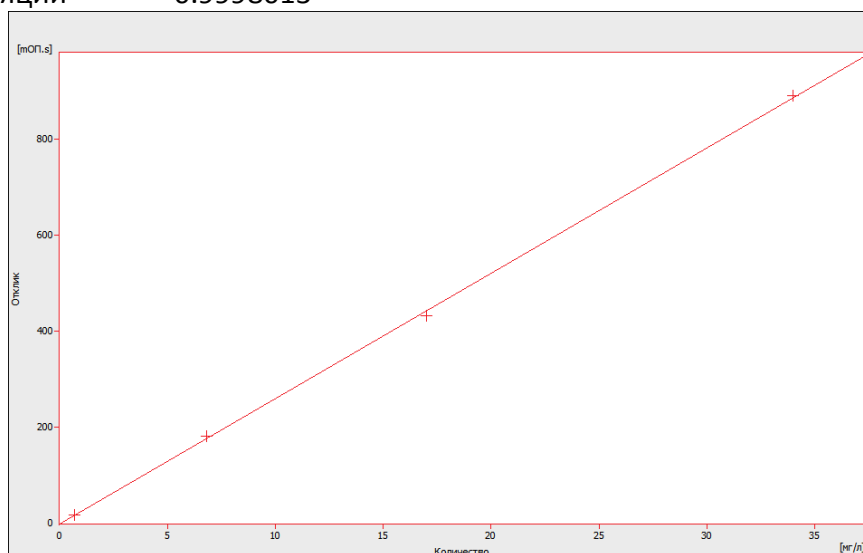
Хроматограмма	Время удерживания [мин]	Площадь [мОП.сек]	Высота [мОП]
Среднее значение	8.701	754.608	50.333
СКО %	0.15	0.27	0.47
1	8.720	753.055	50.257
2	8.707	755.460	50.634
3	8.707	756.856	50.505
4	8.700	755.791	50.360
5	8.687	755.106	50.294
6	8.687	751.383	49.950

Для определения указанных флавоноидов в экстракте листьев грецкого ореха построены калибровочные графики морина, кверцетина и кемпферола. Коэффициенты корреляции полученных графиков составили не менее 0,999.

### Морин

Уравнение калибровочного графика  $Y = 26.08035 * X - 1.27778$

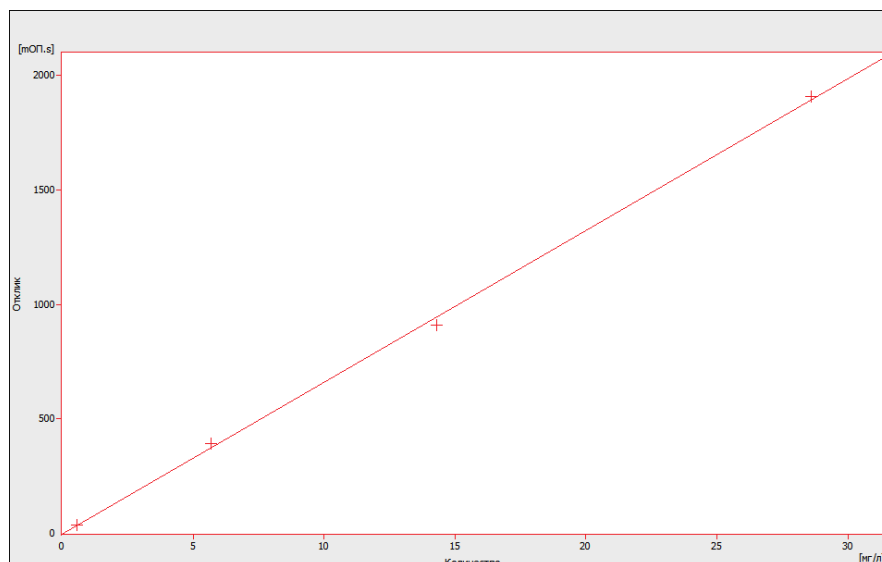
Коэфф. Корреляции 0.9998013



### Кверцетин

Уравнение калибровочного графика  $Y = 66.32248 * X - 3.26063$

Коэфф. Корреляции 0.9995326



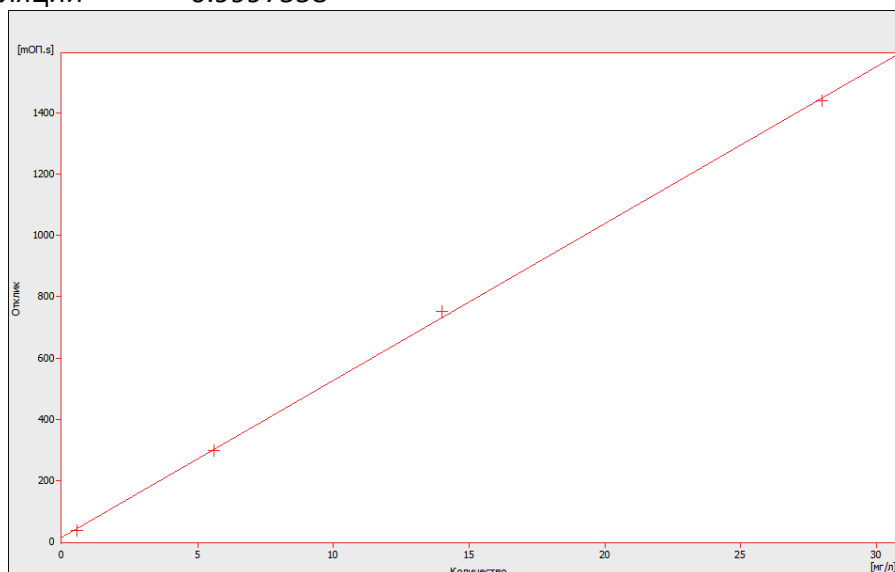
## Кемпферол

Уравнение калибровочного графика

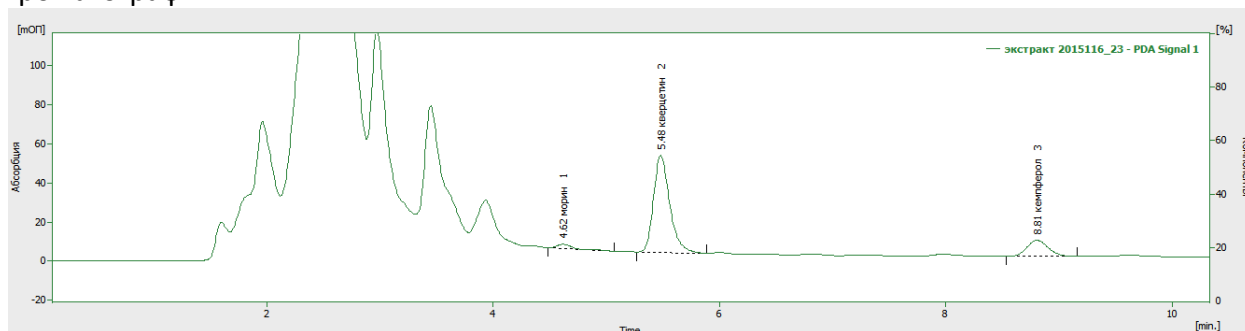
$$Y = 51.21731 * X + 14.74763$$

Коэфф. Корреляции

0.9997558



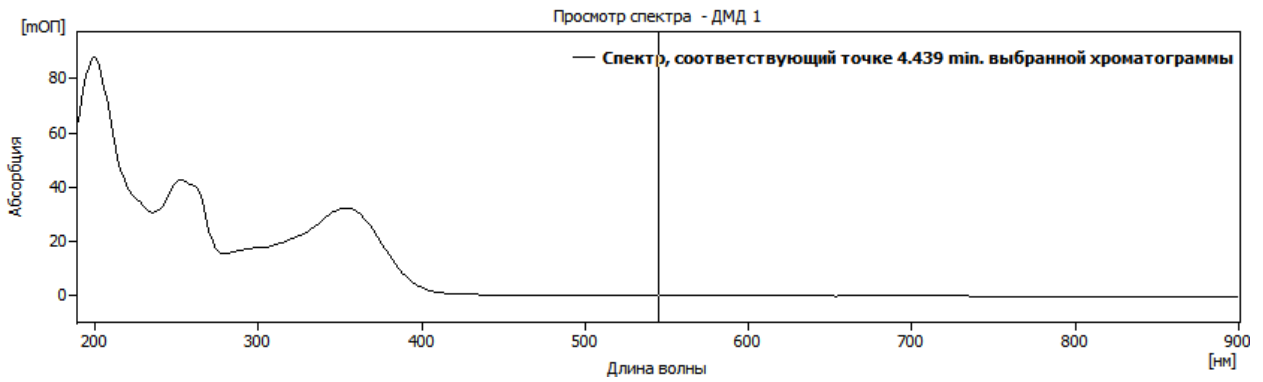
Спиртовой экстракт листьев грецкого ореха фильтровался с использованием фильтра – насадки на медицинский шприц PTFE 0.45мкм. Отфильтрованный экстракт вводился в хроматограф:



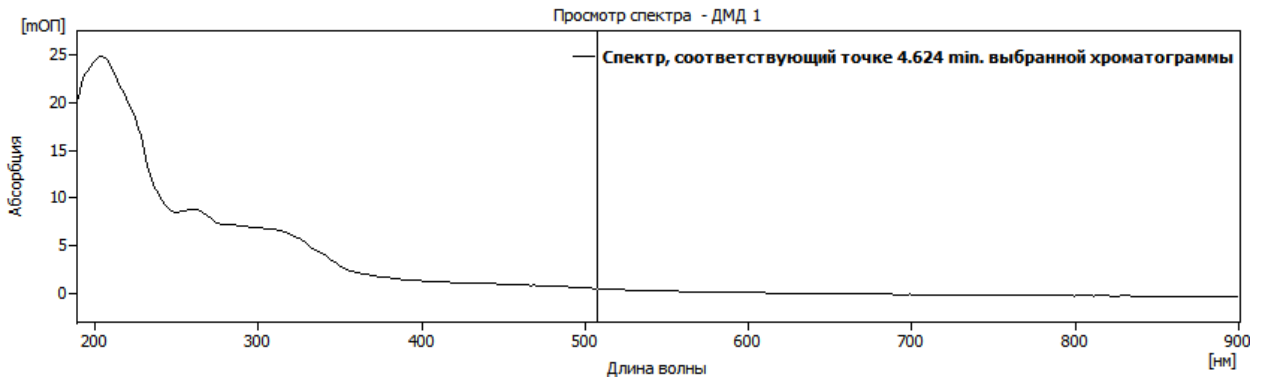
	Время удерживания [мин]	Площадь [мОП.сек]	Высота [мОП]	Количество [мг/л]	Название вещества
1	4.620	23.279	2.202	0.942	морин
2	5.480	493.326	49.710	7.487	кверцетин
3	8.807	106.946	8.184	1.800	кемпферол

В результате, по времени удерживания идентифицируются все три флавоноида в экстракте листьев грецкого ореха. Однако, если сравнивать спектры чистых флавоноидов и идентифицированных пиков в экстракте, то можно увидеть, что спектр морина и пика, идентифицированного как морин в экстракте, отличаются. Значит это разные вещества. В достоверности определения можно быть достаточно уверенным в отношении лишь кверцетина и кемпферола.

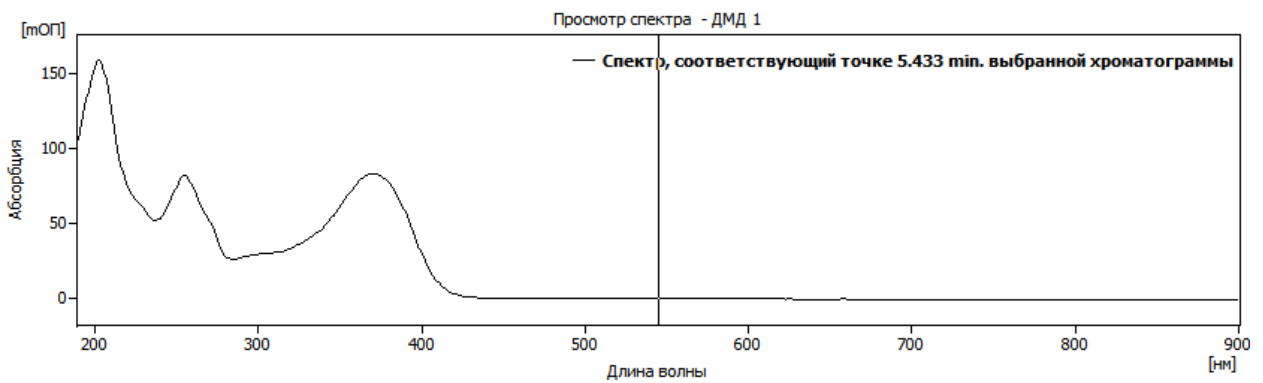
### Спектр морина



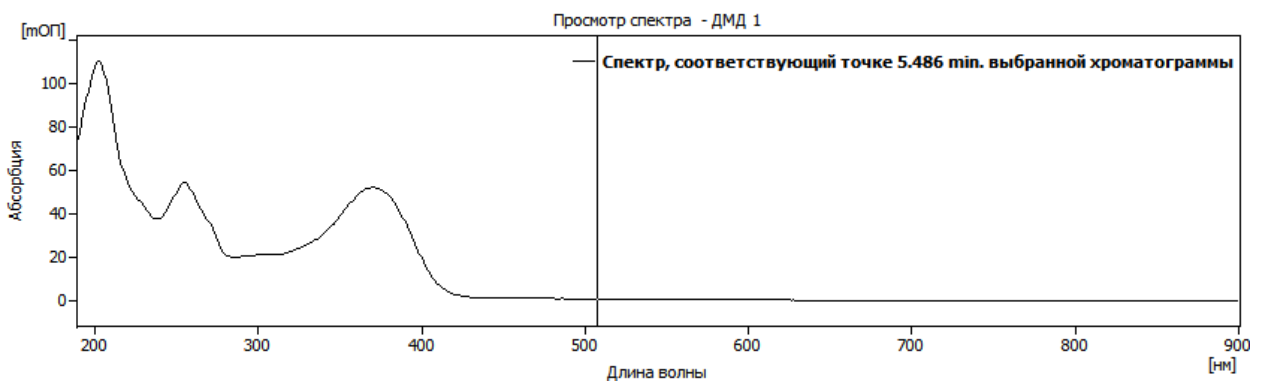
### Спектр пика, идентифицированного как морин в хроматограмме экстракта



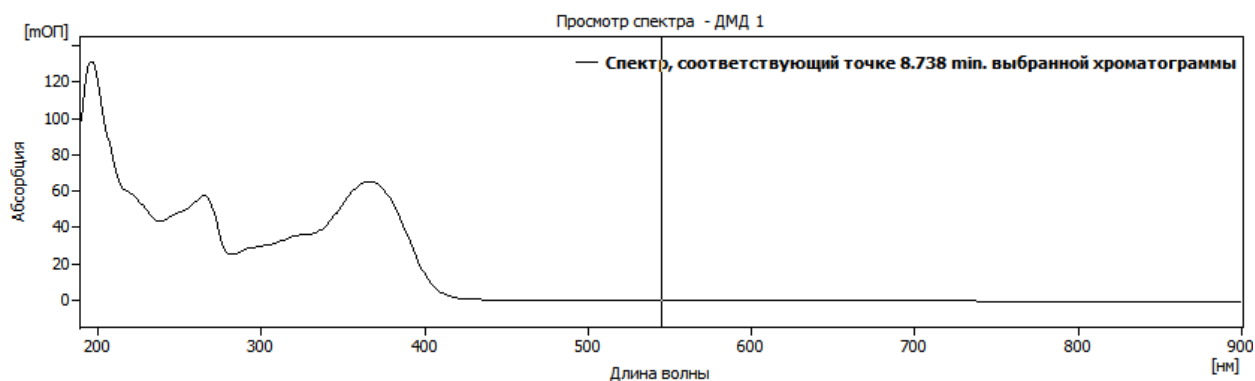
### Спектр кверцетина



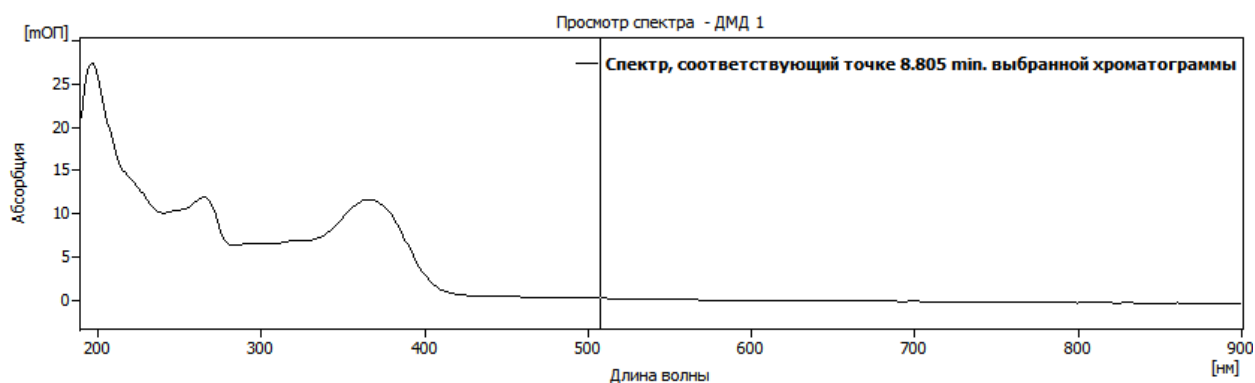
### Спектр пика, идентифицированного как кверцетин в хроматограмме экстракта



## Спектр кемпферола



## Спектр пика, идентифицированного как кемпферол в хроматограмме экстракта



## Выводы

В большинстве полученных результатов СКО составляет менее 0,5%. Жидкостный хроматограф «МаэстроВЭЖХ» с детектором на диодной матрице можно рекомендовать для определения флавоноидов на предприятиях пищевой и фармацевтической промышленности.