



УДК 615.322:582.929.41.074:543

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ТРАВЫ БЕЛОКУДРЕННИКА ЧЕРНОГО (*BALLOTA NIGRA L.*), ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО НА СЕВЕРНОМ КАВКАЗЕ

А.А. КРУГЛАЯ

Пятигорский филиал
Волгоградского
государственного
медицинского университета

e-mail: annandreiko@yandex.ru

В статье изложены данные о содержании фенольных соединений в траве белокудренника черного, произрастающего на Северном Кавказе. Для достижения данной цели использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Методом ВЭЖХ обнаружено 12 соединений фенольной природы, из которых идентифицировано 8 веществ (кумарин, рутин, эпикатехин, эпигаллокатехингаллат (ЭГКГ), дигидрокверцетин, галловая, изоферуловая, хлорогеновая кислоты). Методом ВЭЖХ также было определено содержание галловой кислоты и эпигаллокатехингаллата (ЭГКГ). Содержание составило 0,41% и 0,61% соответственно.

Ключевые слова: белокудренник черный, *Ballota nigra*, фенольные соединения, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Введение. Белокудренник черный (*Ballota nigra L.*) – многолетнее травянистое корневищное растение семейства *Lamiaceae*, высотой 25-125 см. Стебель четырехгранный, ветвистый, опушен мягкими волосками, зеленый или красно-фиолетовый. Листья продолговатойцевидные с неглубоко сердцевидным основанием, с заостренной или острой верхушкой, острозубчатые, с обеих сторон опушены волосками, сверху – темно-зеленые, снизу – более светлые. В России произрастает в европейской части, в Предкавказье и Дагестане, в Сибири и на Дальнем Востоке [1].

Белокудренник черный обладает успокаивающим, противорвотным, спазмолитическим, мочегонным и антисептическим действиями.

Химический состав белокудренника черного согласно данным российских и зарубежных источников представлен терпеновыми, стероидными, фенольными и др. соединениями [2, 3].

Цель работы. Изучение качественного состава фенольных соединений травы белокудренника черного, определение содержания галловой кислоты и эпигаллокатехингаллата.

Материалы и методы. Для достижения данной цели использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Изучение качественного состава фенольных соединений проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы “GILSTON”, модель 305, ФРАНЦИЯ; инжектор ручной, модель RHEODYNE 7125 USA с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы “Мультихром” для “Windows”.

В качестве неподвижной фазы была использована металлическая колонка размером 4,6x250 мм Kromasil C 18, размер частиц 5 микрон.

В качестве подвижной фазы метанол-вода-фосфорная кислота концентрированная, в соотношении 400:600:5. Анализ проводили при комнатной температуре. Скорость подачи элюента 0,8 мл/мин. Продолжительность анализа 70 мин. Детектирование проводилось с помощью УФ-детектора “GILSTON” UV/VIS модель 151, при длине волны 254 нм.

Для исследования сырьё измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм по (ГОСТ 214-83). Около 2,0 г травы белокудренника помещали в колбу вместимостью 200 мл, прибавляли по 40 мл спирта этилового 70%, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 часа с момента закипания спиртоводной смеси в колбе. После охлаждения смесь фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу объёмом 50 мл и доводили спиртом этиловым 70 % до метки (исследуемый раствор).

Параллельно готовили серию 0,05 % растворов сравнения в 70% спирте этиловом: рутина, кверцетина, лютеолина, лютеолин-7-гликозида, геспередина, апигенина, гиперозида, дигидрокверцетина, кемпферола, витексина, изовитексина, нарингенина, байкалина, изорамнетина галловой кислоты, кофейной кислоты, хлорогеновой кислоты, цикориевой кислоты, коричной кислоты, феруловой кислоты, эллаговой, о-кумаровой, умбеллиферона, эскулетина, кумарина, метоксикумарина, эпигаллокатехингаллата, эпикатехина.

По 20 мкл исследуемого раствора и растворов сравнения вводили в хроматограф и хроматографировали по вышеприведенной методике.



Идентификацию разделенных веществ проводили путем сопоставления времен удерживания пиков, полученных на хроматограмме проб, с временами удерживания стандартных растворов. Оценку количественного соотношения идентифицированных веществ в исследуемых образцах проводили по площади пиков, используя метод внутренней нормализации.

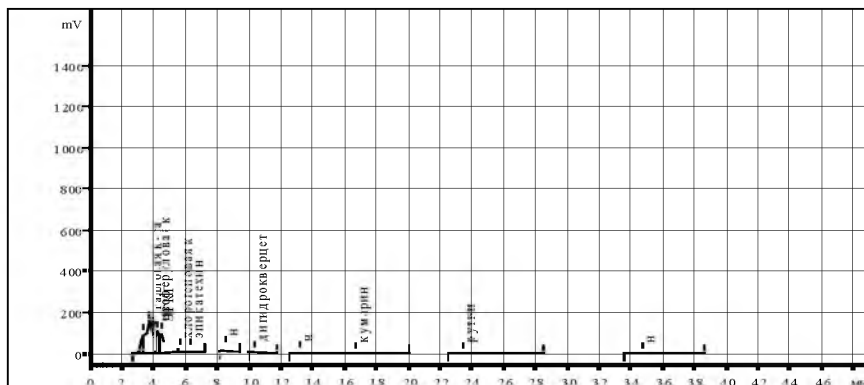


Рис. 1. Хроматограмма ВЭЖХ качественного состава фенольных соединений в траве белокудренника черного

Определение галловой и эпигаллокатехингаллата (ЭГКГ) проводили методом ВЭЖХ по следующей методике.

Около 2.0 г сырья помещали в колбу вместимостью 200 мл, прибавляли 40 мл спирта этилового 70%, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 часа с момента закипания спиртоводной смеси в колбе. После охлаждения смесь фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу объёмом 50 мл и доводили спиртом этиловым 70 % до метки (испытуемый раствор).

Параллельно готовили растворы в 70% спирте этиловом РСО. Для этого около 0,01 г (точная навеска) галловой кислоты или 0,04 г (точная навеска) ЭГКГ помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл 70% этилового спирта, перемешивали до растворения и доводили объём до метки тем же растворителем.

По 20 мкл исследуемого раствора и раствора РСО вводили в хроматограф и хроматографировали по вышеприведенной методике качественного состава фенольных соединений.

Расчёт количественного содержания галловой кислоты и ЭГКГ производили методом абсолютной калибровки с помощью компьютерной программы “Мультихром” для “Windows” и с помощью формулы:

$$C = \frac{S_{исх.} \cdot C_{стандарта} \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100}{S_{стандарта} \cdot a \cdot (100 - W)}$$

где,

- $S_{исх.}$ – площадь пика галловой кислоты или ЭГКГ в исследуемом растворе;
- $S_{стандарта}$ – площадь пика стандартного раствора РСО галловой кислоты или ЭГКГ;
- C – концентрация галловой кислоты или ЭГКГ, в %;
- $C_{стандарта}$ – концентрация РСО галловой кислоты или ЭГКГ, в г/мл;
- a – навеска исследуемого образца, в г.
- W – влага лекарственного сырья, в %.

Результаты. Хроматографические характеристики соединений, обнаруженных методом ВЭЖХ в исследованном извлечении, приведены в табл. 1.

Методом ВЭЖХ в водно-спиртовом (70%) извлечении обнаружено 12 соединений, из них идентифицировано 8 веществ фенольной природы: флавоноиды (рутин, дигидрокверцетин), гидроксикоричные кислоты (изоферуловая, хлорогеновая кислоты), кумарин, дубильные вещества (эпикатехин, эпигаллокатехингаллат (ЭГКГ), галловая кислота). Содержание суммы идентифицированных фенольных соединений составило 80,84% от всех обнаруженным данным методом соединений.

Содержание галловой кислоты и ЭГКГ в изучаемом образце методом ВЭЖХ составило 0,41% и 0,64% соответственно.



Таблица 1

Состав фенольных соединений травы белокудренника черного

	Время, мин	Высота, mV	Площадь, mV*сек	Концентрация, %	Название
1	3.225	93.14	1282.48	10.35	пик 1
2	3.629	157.47	4633.48	37.39	галловая к-та
3	4.148	104.71	1298.54	10.48	изоферуловая к-та
4	4.377	97.66	2918.61	23.55	ЭГКГ
5	5.575	14.94	288.58	2.33	хлорогеновая к-та
6	6.18	12.14	497.90	4.02	эпикатехин
7	8.448	23.22	717.27	5.79	пик 2
8	10.24	2.41	100.00	0.80	дигидрокверцет
9	13.12	4.77	252.67	2.04	пик 3
10	16.68	2.94	221.62	1.79	кумарин
11	23.34	0.50	58.87	0.48	рутин
12	34.46	1.03	121.29	0.98	пик 4
	49.33	514.94	12391.32	100.00	

Выводы. В результате проведенных исследований был изучен качественный состав фенольных соединений методом ВЭЖХ. Обнаружено 12 соединений фенольной природы, из которых идентифицировано 8 веществ (кумарин, рутин, эпикатехин, эпигаллокатехингаллат (ЭГКГ), дигидрокверцетин, галловая, изоферуловая, хлорогеновая кислоты). Так же методом ВЭЖХ было определено содержание галловой кислоты и эпигаллокатехингаллата (ЭГКГ). Содержание составило 0,41% и 0,61% соответственно.

Литература

1. Губанов И.А. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные)/ Губанов И.А., Киселёва К.В. и др. // Москва: Т-во научных изданий КМК, Ин-т технологических исследований. – 2004. –Т.3. – С.112.
2. Круглая А.А. Макро- и микроэлементный состав травы и корневищ белокудренника черного (*Ballota nigra* L.), произрастающего на Северного Кавказе/А.А. Круглая// «Научное обозрение», 2010. – № 1. – С. 8 – 11.
3. Marie-Caroline Bertrand *Two major flavonoids from Bellota nigra*/ Marie-Caroline Bertrand, François Tillequin, François Bailleul //Biochemical Systematics and Ecology. –Vol. 28. – 2000. – P. 1031-1033.

PHENOLIC COMPOUNDS OF BLACK HOREHOUND (*BALLOTA NIGRA* L.) HERB, WHICH GROWS IN THE NORTH CAUCASUS

A.A. KRUGLAYA

Pyatigorsk branch of Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

e-mail: annandreiko@yandex.ru

The article presents data on the content of phenolic compounds in black horehound herb that grows in the North Caucasus. To achieve this purpose, the method of high performance liquid chromatography (HPLC) was used. HPLC detected 12 phenolic compounds, of which identified eight compounds (coumarin, rutin, epicatechin, epigallocatechin gallate (EGCG), dihydroquercetin, gallic, izoferulovaya, chlorogenic acid). HPLC also determined the content of gallic acid and epigallocatechin gallate (EGCG). The content was 0.41% and 0.61% respectively.

Keywords: black horehound, *Ballota nigra*, phenolic compounds, high performance liquid chromatography.