



УДК 615.322:547.814.5.06:543.544.5.068.7

ПОЛИФЕНОЛЬНЫЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ КРЫЖОВНИКА ОТКЛОНЕННОГО И ШЕЛКОВИЦЫ ЧЕРНОЙ

С.Л. ПЕЛИВАНОВА
И.И. СЕЛИНА
О.А. АНДРЕЕВА
Э.Т. ОГАНЕСЯН

*Пятигорский филиал
Волгоградского
государственного
медицинского университета*

e-mail: edwardov@mail.ru

В статье изложены результаты исследования полифенольного состава крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* (L) Mill.) и шелковицы черной (*Morus nigra* L.) методом ВЭЖХ. С помощью современных методов анализа установлено количественное содержание таких биологически активных веществ (БАВ), как хлорогеновая кислота, эпигаллокатехин галлат (ЭПКГ), рутин.

Ключевые слова: крыжовник отклоненный, шелковица черная, метод ВЭЖХ, флавоноиды, кумарины и фенолкарбоновые кислоты.

Введение. Для изучения полифенольного состава полученных извлечений из крыжовника отклоненного – *Grossularia reclinata* (L) Mill. (сорт – Московский красный) и шелковицы черной (*Morus nigra* L.) использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). С этой целью получили извлечения из листьев крыжовника отклоненного и листьев шелковицы черной трехкратной экстракцией спиртом этиловым 40%. Полученные извлечения объединяли, спирт отгоняли под вакуумом до объема 25 мл и далее подвергали детектированию. В экстракте крыжовника обнаружено 23 вещества, из которых идентифицировано 13 соединений полифенольной природы. В экстракте шелковицы обнаружено 16 веществ, из которых идентифицировано 6 соединений полифенольной природы. Они представлены главным образом флавоноидами, кумаринами и фенолкарбоновыми кислотами.

Обращает на себя внимание тот факт, что на ВЭЖХ-хроматограммах не идентифицировано 5 веществ экстракта крыжовника и 9 веществ экстракта шелковицы, характеризующихся высокой интенсивностью и значительными площадями пиков.

Цель исследования – изучение полифенольного состава листьев крыжовника отклоненного и шелковицы черной

Материалы и методы. *Условия хроматографирования.* 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 [3].

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 использовали представленный образец в разведении 1:10 70% спиртом этиловым (исследуемый раствор).

Параллельно готовили серию 0,05% растворов сравнения в 70% спирте этиловом: рутин, кверцетин, лютеолин, лютеолин-7-гликозида, гесперидин, апигенин, гиперозид, дигидрокверцетин, кемпферол, витексин, изовитексин, нарингенин, изорамнетин галловой кислоты, кофейной кислоты, хлорогеновой кислоты, цикориевой кислоты, коричной кислоты, феруловой кислоты, эллаговой, о-кумаровой, аскорбиновой кислоты, умбеллиферона, эскулетин, кумарин, метоксикумарин, эпигаллокатехингаллат, эпикатехин. По 20 мкл исследуемого раствора и растворов сравнения вводили в хроматограф и хроматографировали по вышеприведенной методике [1, 3, 4].

Результаты и их обсуждение. Результаты проведенных исследований экстрактов крыжовника отклоненного и шелковицы черной приведены на рис. 1, 2 и в табл. 1, 2.

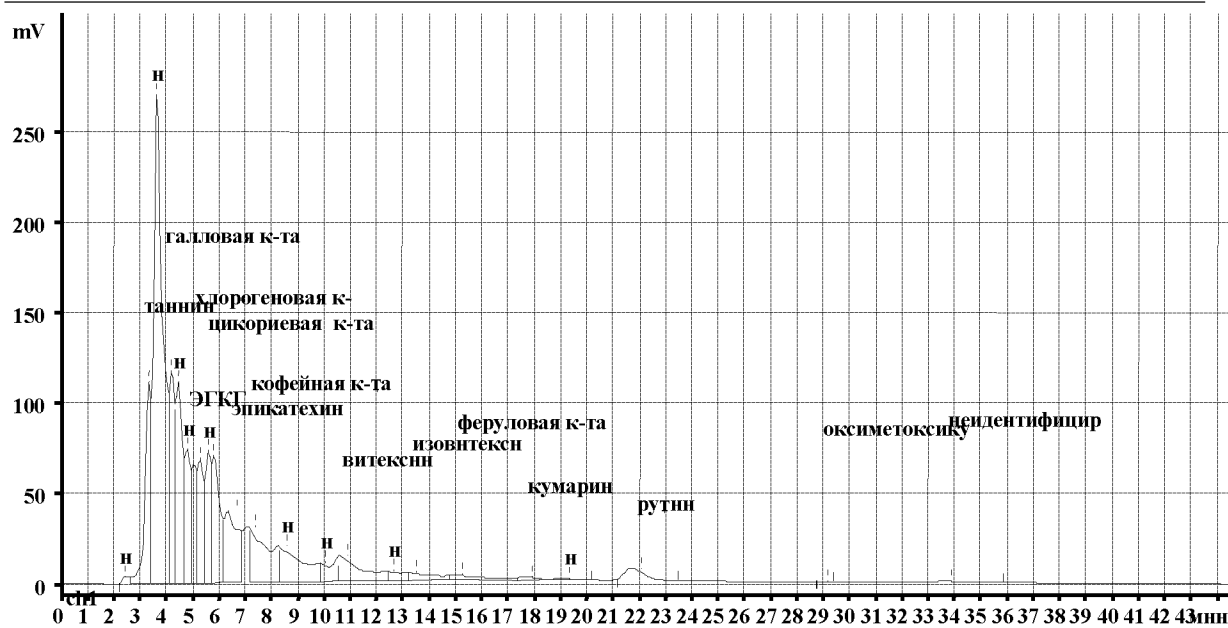


Рис. 1. ВЭЖХ-хроматограмма 40% спиртового экстракта крыжовника отклоненного

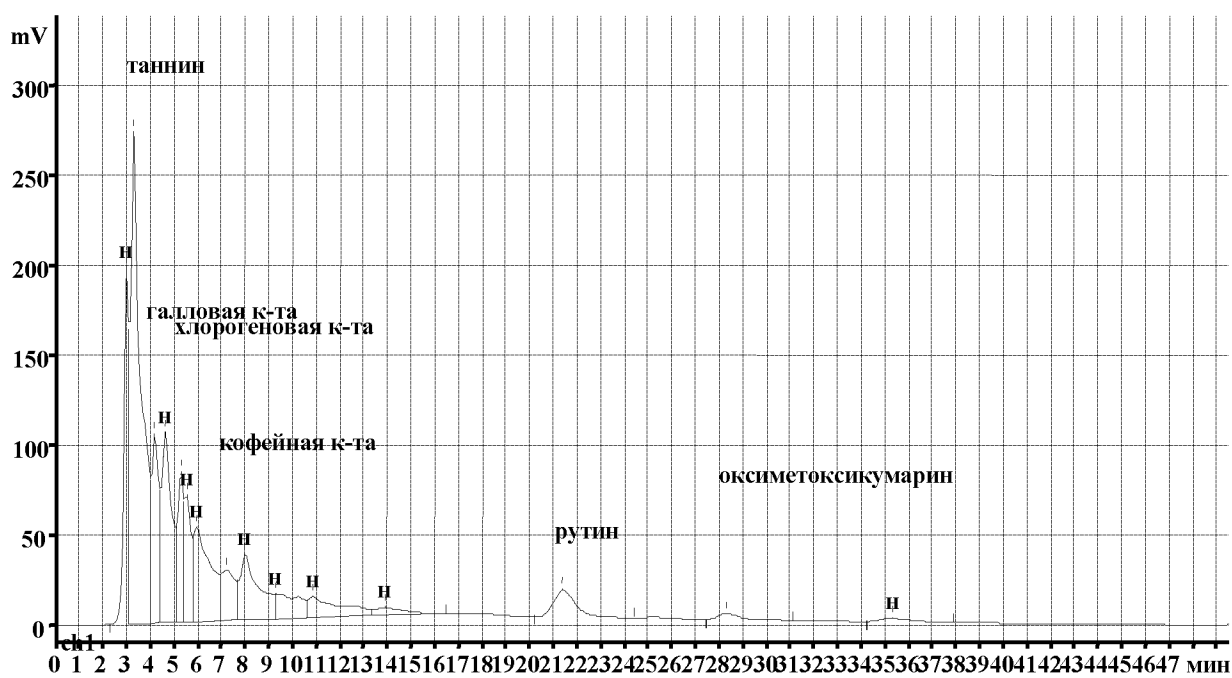


Рис. 2. ВЭЖХ-хроматограмма 40% спиртового экстракта шелковицы черной

Таблица 1

Идентификация фенольных соединений 40% спиртового экстракта листьев крыжовника отклоненного методом ВЭЖХ

Идентифицированные соединения	Время удерживания, сек	Количественное соотношение, %
Галловая к-та	250,4	6,51
Хлорогеновая к-та	314,6	4,30
Цикориевая к-та	347,0	6,00
Кофейная к-та	423,4	6,69
Феруловая к-та	895,2	1,34
Витексин	633,6	3,99
Рутин	1301,4	1,35
Изовитексин	788,4	1,41
Таннин	197,5	6,37
ЭГКГ	301,0	3,39
Эпикатехин	377,4	5,55
Кумарин	1056,0	0,48



Таблица 2

**Идентификация фенольных соединений 40% спиртового экстракта
листьев шелковицы черной методом ВЭЖХ**

Идентифицированные соединения	Время удерживания, сек	Количественное соотношение, %
Танин	196,56	29,76
Галловая кислота	249,06	7,23
Хлорогеновая кислота	315,48	5,16
Кофейная кислота	431,34	3,69
Рутин	1283,40	3,36
Оксиметоксикумарин	1696,20	0,69

Количественное определение хлорогеновой кислоты и ЭПГКГ в экстракте крыжовника отклоненного методом ВЭЖХ.

Для исследования использовали представленный образец в разведении 1:10 70% спиртом этиловым (исследуемый раствор).

Параллельно готовили растворы в 70% спирте метиловом РСО. Для этого около 0,02 г (точная навеска) хлорогеновой кислоты или 0,04 ЭПГКГ помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл спирта этилового 70%, перемешивали до растворения и доводили объём до метки тем же растворителем (РСО).

По 20 мкл исследуемого раствора и раствора РСО вводили в хроматограф и хроматографировали по вышеприведенной методике [2, 5].

Расчет количественного содержания хлорогеновой кислоты и ЭПГКГ производили методом абсолютной калибровки с помощью компьютерной программы «Мультихром» для Windows и с помощью формулы:

$$C\% = \frac{S_{ис.} \times C_{ст.} \times 100 \times 10 \times 100}{S_{ст.} \times 1 \times (100 - W)} \quad \text{где}$$

- S_{ис.} – площадь пика хлорогеновой кислоты или ЭПГКГ в исследуемом растворе;
- S_{ст.} – площадь пика стандартного раствора РСО хлорогеновой кислоты или ЭПГКГ;
- C % – концентрация хлорогеновой кислоты или ЭПГКГ в % в испытуемом образце;
- C_{ст.} – концентрация РСО хлорогеновой кислоты или ЭПГКГ в г/мл;
- a – навеска исследуемого образца в г;
- W – влага в %.

Результаты проведенных исследований приведены в табл. 3.

Таблица 3

**Результаты количественного определения хлорогеновой кислоты и ЭПГКГ
в экстракте крыжовника методом ВЭЖХ**

Найдено в %	
хлорогеновой кислоты	ЭПГКГ
0,051	0,0996

Количественное определение хлорогеновой кислоты и рутина в экстракте шелковицы методом ВЭЖХ.

Для исследования использовали представленный образец в разведении 1:20 70% спиртом этиловым (исследуемый раствор).

Параллельно готовили растворы в 70% спирте метиловом РСО. Для этого около 0,02 г (точная навеска) хлорогеновой кислоты или 0,08 рутина помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл спирта этилового 70%, перемешивали до растворения и доводили объём до метки тем же растворителем (РСО).

По 20 мкл исследуемого раствора и раствора РСО вводили в хроматограф и хроматографировали по вышеприведенной методике [3, 5].

Расчет количественного содержания хлорогеновой кислоты и рутина производили методом абсолютной калибровки с помощью компьютерной программы «Мультихром» для Windows и с помощью формулы:

$$C\% = \frac{S_{ис.} \times C_{ст.} \times 100 \times 20 \times 100}{S_{ст.} \times 1 \times (100 - W)} \quad \text{где}$$



S ис. – площадь пика хлорогеновой кислоты или рутина в исследуемом растворе;
 S ст. – площадь пика стандартного раствора РСО хлорогеновой кислоты или рутина;
 С % – концентрация хлорогеновой кислоты или рутина в % в испытуемом образце;
 С ст. – концентрация РСО хлорогеновой кислоты или рутина в г/мл;
 а – навеска исследуемого образца в г;
 W – влага в %.

Результаты проведенных исследований приведены в табл. 4.

Таблица 4

Результаты количественного определения хлорогеновой кислоты и рутина в представленном образце методом ВЭЖХ

Найдено в %	
хлорогеновой кислоты	рутина
0,14	0,058

Выводы:

1. Проведены химические исследования листьев крыжовника отклоненного *Grossularia reclinata* (L) Mill. и листьев шелковицы черной (*Morus nigra* L.).

Впервые обнаружены:

- в листьях крыжовника отклоненного: галловая, хлорогеновая, цикориевая, кофейная, феруловая кислоты, витексин, изовитексин, рутин, танин, ЭПКГ, эпикатехин, кумарин;
- в листьях шелковицы черной: танин, галловая, хлорогеновая, кофейная кислоты, рутин, оксиметоксикумарин.

2. С помощью современных методов установлено количественное содержание некоторых групп БАВ:

- в листьях крыжовника: хлорогеновая кислота – 0,051%, ЭПКГ – 0,0996%;
- в листьях шелковицы: хлорогеновая кислота – 0,14%, рутин – 0,058%.

Литература

1. Бандюкова, В.А. Фенолокислоты растений, их эфиры и гликозиды / В.А. Бандюкова // Химия природ. сырья. – 1983. – № 3. – С. 263-273.
2. Дейнека, В.И. ВЭЖХ в исследовании флавоноидов. Определение рутина / В.И. Дейнека, А.М. Григорьев, В.М. Староверов // Хим-фармац. журн. – 2004. – Т. 38, № 4. – С. 23-25.
3. Запрметов, М. Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях // М. Н. Запрметов. – М. : Наука, 1993.-272 с.
4. Клышев, Л.К. Флавоноиды растений // Л.К. Клышев, В.А. Бандюкова, Л.С. Алюкина. – Алма-Ата : Наука, 1978. – 220 с.
5. Лобанова, И.Ю. Изучение влияния рН среды на характер УФ-спектров при очистке водных извлечений от сопутствующих соединений при количественном определении фенологликозидов коры осины обыкновенной / И.Ю. Лобанова, В.Ф. Турецкова, С.С. Рассышнова // Актуальные проблемы фармации : сб. науч. ст. – Барнаул, 2008. – С. 68-73.

POLYPHENOLIC COMPOSITION OF GOOSEBERRY REJECTED AND BLACK MULBERRIES LEAVES

S.I. PELIVANOVA
I.I. SELINA
A.O. ANDREEVA
E.T. OGANESYAN

*Pyatigorsk Branch of
 Volgograd State
 Medical University*

e-mail: edwardov@mail.ru

Investigation of polyphenol composition of gooseberry rejected (*Grossularia reclinata* (L) Mill.) and black mulberry (*Morus nigra* L.) is reported by HPLC in this article. Quantitative content of biologically active substances (BAS) such as chlorogenic acid, epigallocatechin gallate (EPGKG), routines was established by using modern methods of analysis.

Keywords: gooseberry rejected, black mulberry, the HPLC method, flavonoids, coumarins and phenol carbonic acids.