

REFERENCES

1. Iskenderov, G. B. Chemical study of triterpene glycosides of berries of common ivy / G. B. Iskenderov, S. Sh. Musaeva // Chemistry of plant raw materials. – 2015. – № 3. – С. 193-197.
2. Yakovishin L.A. Triterpene glycosides of the drug «Gederin^{1/2}» / LA Yakovishin, V.I. Grishkovets, I.A. Zholud // Methods and objects of chemical analysis 22330 T0 8, No. 20 P0 88-20
3. Grishkovets V.I. Triterpene glycosides Jefetc tcwtkec0 VK0 Structure of hederosides G, J3, J2 and K from the berries of Crimean ivy / V.I. Grishkovets, A.A. Loloiko, A.S. Shashkov, V.Y. Chirva // Chemistry of natural compounds 320 №80 P0 99;-985
4. Iskenderov G.B Triterpene glycosides Jefetc rcutwehqxkk // Pharmacia0 3;930 #60 P0 29-52.
5. Dekanosidze G.E. Research of triterpene glycosides (structure determination and synthesis) / G.E. Dekanosidze, V.A. Chirva, T.V. Sergeenko, N.I. Uvarova // Tbilisi, Metsnireba, 1982. 151 c.
6. Malchukovsky L.B. Determination of triterpene saponins in powder and tablets «Saparab» / L.B. Malchukrsky, N.I. Libizov // Pharmacia, 1971. №2. С. 68-71. Tolkacheva N.V. Cand. of chemical sciences. Odessa, 1992. 22 c.
7. Mansfeld H.-J., Hohre H., Repges R., Dethlefsen U. // Münch Med Wschr. 1998. Vol. 140 (3), pp. 26-30.
8. Borisenko S.N., Tikhomirova K.S., Borisenko N.I., Vetrova E.V. Russian Federation Patent № 2395516, 2010.
9. Dekanosidze G.E. Research of triterpene glycosides (structure determination and synthesis) / G.E. Dekanosidze, V.A. Chirva, T.V. Sergeenko, N.I. Uvarova // Tbilisi, Metsnireba, 1982. 151 c.
10. Yakovishin, L. A. Method of isolation of the main triterpene glycosides from ivy leaves / L. A. Yakovishin, V. I. Grishkovets // Scientific Notes of the Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky. Biology. Chemistry. – 2018. – Т. 4 (70), № 2. – С. 226-234. – EDN XTKBLN.

УДК 615.451.16:582.943:543.544

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ИЗВЛЕЧЕНИЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПАРАМЕТРАХ ЭКСТРАКЦИИ ИЗ БЕЛОКУДРЕННИКА ЧЁРНОГО (*BALLOTA NIGRA*) ТРАВЫ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Тарасовец Д.В., студ. 3 курса ФФ, **Терлецкая В.А.**, асп. 2 года обучения (ORCID: 0009-0000-8848-4617)

Руководитель: **Лукашов Р.И.**, заведующий кафедрой фармацевтической химии с курсом ПК и П,

канд. фарм. наук, доцент (ORCID: 0000-0001-9547-5372)

Белорусский государственный медицинский университет

220083, Минск, пр-т. Дзержинского, д. 83, Республика Беларусь

E-mail: dzmtrtar@mail.ru

В данном исследовании проведён сравнительный анализ качественного и количественного состава извлечений из травы белокудренника чёрного полученных при различной температуре и времени экстракции, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. В ходе качественного анализа установлено наличие следующих веществ: хлорогеновая кислота, кофейная кислота и вербаскозид. В ходе количественного анализа установлено, что содержание хлорогеновой кислоты составляет от 0,024% до 0,45% в пересчёте на сухое сырьё, содержание кофейной кислоты – от 0,6821% до 1,421%, содержание вербаскозида – от 0,1% до 0,271% в пересчёте на сухое сырьё.

Ключевые слова: белокудренник чёрный, *ballota nigra*, высокоэффективная жидкостная хроматография, биологически активные вещества, вербаскозид, хлорогеновая кислота, кофейная кислота.

Белокудренник чёрный – распространённое растение на территории Беларуси. Данное растение перспективно для изучения, так как в экспериментах *in vivo* получены данные о следующих видах активности: противовирусная [1], антипролиферативная [2], гипогликемическая [3], гепатопротекторная [4], седативная [5].

Несмотря на достаточно большой потенциал применения в медицине на данное растение отсутствует нормативная документация, регламентирующая качество сырья белокудренника.

На данный момент известны исследования фенилпропаноидов колориметрическим методом [5]. Сравнительный анализ биологически активных веществ спиртовых извлечений не проводился.

Целью данной работы является изучение качественного и количественного состава при разных параметрах экстракции.

Задачи:

- 1) получение извлечений при различных параметрах экстракции (температуры и времени);
- 2) ВЭЖХ-анализ полученных извлечений.

Материалы и методы. Трава белокудренника чёрного заготавливалась в г. Минске в мае 2023 года. Далее получали извлечения, изменяя определённые параметры экстракции: время (15-30-60-90-120-180-360 минут) при температуре экстракции 60°C, температура (20-40-60-80-100°C) (время экстракции 120 минут) при нагревании на водяной бане, при соотношении сырьё:экстрагент 1:50, в качестве растворителя использовался 70% этанол.

Для проведения анализа извлечения центрифугировали в течение 10 минут (центрифуга СМ-70М.07, количество оборотов в минуту – 7000). Надосадочную жидкость отбирали в количестве 1.5 мл в вials. Анализ полученного

супернатанта проводился на хроматографе Ultimate 3000 (детектор – диодно-матричный). Обработка полученных результатов проводилась с помощью программы Chromeleon 7.

Градиент концентрации подвижных фаз и условия хроматографирования приведены в таблице 1 и таблице 2 [6]:

Таблица 1 – Градиент концентрации подвижных фаз в зависимости от времени

Время (мин)	Подвижная фаза А (% об/об)	Подвижная фаза В (% об/об)
0	90	10
0 – 13	90 → 78	10 → 22
13 – 14	78 → 60	22 → 40
14 – 20	60	40

Таблица 2 – Условия хроматографирования

Параметр	Характеристика
Колонка	Длина 0,25 м. Внутренний диаметр 4,6 мм
Температура	35°C
Подвижная фаза	Подвижная фаза А: кислота фосфорная Р – Вода Р, соотношение 1:999; Подвижная фаза В: ацетонитрил Р.
Скорость подвижной фазы	1,5 мл/мин.
Детектор	Диодно-матричный
Объём пробы	10 мкл.

Для определения содержания вербаскозида, хлорогеновой кислоты, кофейной кислоты использовался метод градуировочного графика.

Для идентификации компонентов проводилось сравнение с временем удерживания и спектром поглощения растворов стандартных образцов: вербаскозида 0,1%, хлорогеновой кислоты 0,1%, кофейной кислоты 0,1%, рутина 0,1%, гиперозида 0,1%, кверцетина 0,1% (производитель стандартов «Sigma-Aldrich», США).

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили при помощи программы Microsoft Office Excel 2010 (пакет «Анализ данных»). Каждое испытание выполняли три раза ($P = 95\%$; $n = 3$). Значения содержания соединений статистически значимо различались при $p < 0,05$ (использовался метод t-теста для независимых выборок).

Результаты и обсуждение. Хроматограммы извлечений (рис. 1, рис. 2), для хроматограммы 1 было изменено время экстракции до 120 минут, соотношение сырьё:экстрагент 1:50, растворитель 70% этанол, для хроматограммы 2 была изменена температура экстракции до 60°C, сырьё:экстрагент 1:50, растворитель 70% этанол:

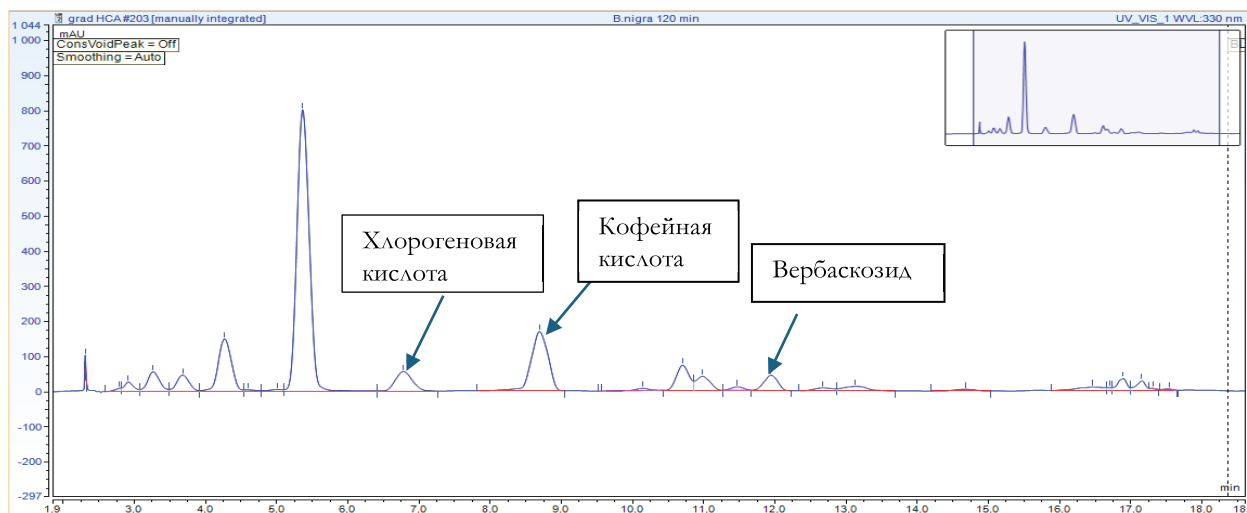


Рисунок 1. Хроматограмма извлечения белокурденника чёрного

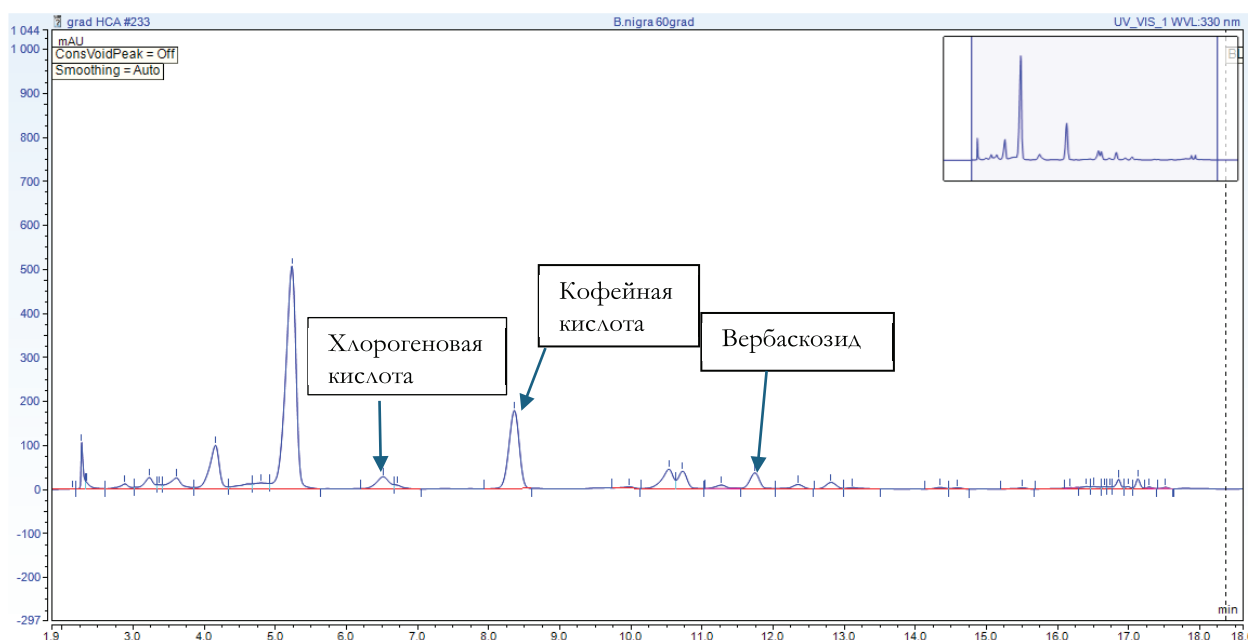


Рисунок 2. Хроматограмма извлечения белокудренника чёрного

В зависимости от изменения параметров экстракции (сперва изменялось время экстракции, затем изменялась температура) изменялось число детектированных веществ. При изменении времени экстракции число компонентов составляло от 25 до 27, при изменении температуры – от 24 до 35.

Исходя из полученных данных следует, что изменение температуры значительно влияет на качественный состав извлечения, с повышением температуры до определённого значения количество пиков увеличивается, затем дальнейшее повышение температуры ведёт к значительному уменьшению количества веществ, наибольший качественный состав наблюдается при температуре 60°C с количеством детектируемых компонентов 35, а наименьший качественный состав наблюдается при температуре 100°C с количеством компонентов 24.

Всего в извлечениях белокудренника (при температуре экстракции 60°C и времени экстракции 120 минут) было детектировано 35 соединений, опираясь на их спектральные данные веществ, 28 из них предположительно относятся к гидроксикоричным кислотам или фенилпропаноидам, а также 7 компонентов являются веществами флавоноидной природы.

Из всех детектируемых компонентов были идентифицированы: хлорогеновая кислота (таблица 3), кофейная кислота (таблица 4), вербаскозид (таблица 5):

Таблица 3 – Данные по идентификации хлорогеновой кислоты.

Исследуемый образец	Стандартный образец хлорогеновой кислоты	Извлечение белокудренника при 60°C	Извлечение белокудренника при 120 мин
Время удерживания, мин	7,33	6,51	6,78
Максимумы поглощения, нм	217,65 239,76 326,34	218,09 239,49 328,07	217,6 239,55 327,34

Содержание хлорогеновой кислоты в анализируемых извлечениях составляет от 0,024% до 0,45% в пересчёте на сухое сырьё ($p < 0,05$) (рис. 3).

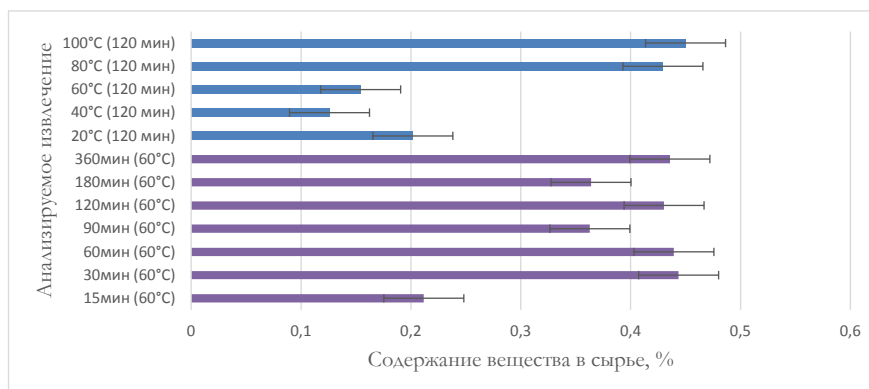


Рисунок 3. Диаграмма содержания хлорогеновой кислоты в извлечениях белокудренника, полученных при разной температуре и времени экстракции

Таблица 4 – Данные по идентификации кофейной кислоты

Исследуемый образец	Стандартный образец кофейной кислоты	Извлечение белокудренника при 60°C	Извлечение белокудренника при 120 мин
Время удерживания, мин	9,255	8,36	8,692
Максимумы поглощения, нм	217,54 237,35 324	218,14 242,3 328,78	218,16 242,95 329,33

Содержание кофейной кислоты в анализируемых извлечениях составляет от 0,681% до 1,421% в пересчёте на сухое сырьё $p < 0,05$ (рис. 4).

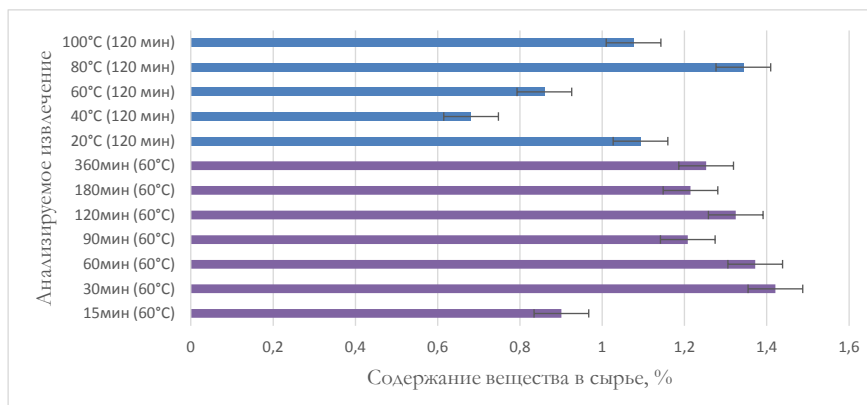


Рисунок 4. Диаграмма содержания кофейной кислоты в извлечениях белокудренника, полученных при разной температуре и времени экстракции

Таблица 5 – Данные по идентификации вербаскозида

Исследуемый образец	Раствор стандартного образца вербаскозида	Извлечение белокудренника при температуре 60°C	Извлечение белокудренника при 120 мин
Время удерживания, мин	11,897	11,742	11,945
Максимумы поглощения, нм	217,43 330,45	217,82 330,13	218,86 330,66

Содержание вербаскозида в анализируемых извлечениях составляет от 0,1% до 0,271% в пересчёте на сухое сырьё $p < 0,05$ (рис. 5).

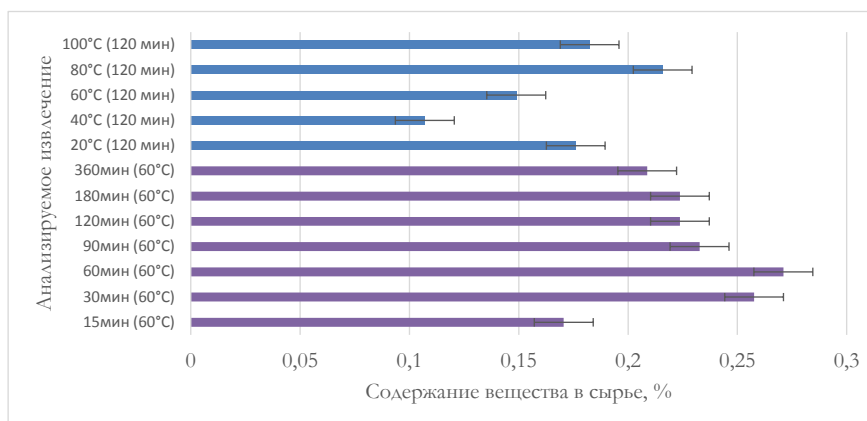


Рисунок 5. Диаграмма содержания вербаскозида в извлечениях белокудренника, полученных при разной температуре и времени экстракции

Заключение. В ходе исследования был проведён качественный и количественный хроматографический анализ извлечений белокудренника чёрного, которые получали путём изменения одного из параметров экстракции. Оптимальными условиями для каждого из веществ являются: для хлорогеновой кислоты – время экстракции 60 минут, температура 100°C; для кофейной кислоты – время экстракции 30 минут, температура 80°C; для вербаскозида – время экстракции 60 минут, температура 80°C. В ходе качественного анализа установлено наличие следующих веществ: хлорогеновая и кофейная кислоты и вербаскозид. В ходе количественного анализа установлено: содержание хлорогеновой кислоты составляет от 0,024% до 0,45% в пересчёте на сухое сырьё, содержание кофейной кислоты составляет от 0,6821% до 1,421%, содержание вербаскозида составляет от 0,1% до 0,271% в пересчёте на сухое сырьё.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.31 Фармакогнозия

76.31.35 Фармхимия

ЛІТЕРАТУРА

1. Medicinal Herbs in the Relief of Neurological, Cardiovascular, and Respiratory Symptoms after COVID-19 Infection A Literature Review / J. Nawrot [et al.] // Cells. 2022. Vol. 11(12). P. 1-25. DOI: 10.3390/cells11121897.
2. Phytochemical profile of three Ballota species essential oils and evaluation of the effects on human cancer cells / D. Rigano [et al.] // Natural product research. 2017. Vol. 31(4). P. 436-444. DOI: 10.1080/14786419.2016.1185722.
3. Effects of Ballota nigra on glucose and insulin in alloxan-diabetic albino rats / M.K Nuiser [et al.] // Neuroendocrinology Letters. 2007. Vol. 28(4). P.470-472.
4. Hashem F, Zarei M. A. Tyrosinase inhibitory activity within hexane extract of ten screened plants from Kurdistan Province of Iran // Int. J. Adv. Biol. Biomed. Res. 2014. Vol. 2. P. 2795- 2799.
5. Neurosedative and Antioxidant Activities of Phenylpropanoids from Ballota nigra / D A Daels-Rakotoarison [et al.] // Arzneimittelforschung. 2000. Vol. 50(1). P.16-23. DOI: 10.1055/s-0031-1300158.
6. Государственная Фармакопея Республики Беларусь / Министерство здравоохранения Республики Беларусь; Республиканское унитарное предприятие «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении». – 2-е изд. – Т.2: Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья. – Минск, 2016. – 1368 с.

SUMMARY

**COMPARATIVE ANALYSIS OF COMPONENT COMPOSITION
OF EXTRACTS AT DIFFERENT EXTRACTION PARAMETERS FROM BLACK HOREHOUND HERB
(*B.NIGRA*) BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD**

Tarasovets D.V., student 3 course, **Terletskaia V.A.**, PhD 2nd year of study (ORCID: 0009-0000-8848-4617)

Supervisor: **Lukashov R.I.**, Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry with the course of PK and P,
candidate of pharmaceutical sciences, associate professor (ORCID: 0000-0001-9547-5372)

Belarusian State Medical University

22008393, Minsk, Dzerzhinsky Ave. 83, Republic of Belarus

E-mail: dzmtrtar@mail.ru

In this work, a comparative analysis of the qualitative and quantitative composition of extracts from the herb of ballota nigra, obtained at different temperatures and extraction times, by high-performance liquid chromatography was carried out. Qualitative analysis revealed the presence of the following substances: chlorogenic and caffeic acids, verbascoside. Quantitative analysis showed that the content of chlorogenic acid ranged from 0.024% to 0.45% in terms of dry raw material, the content of caffeic acid ranged from 0.6821% to 1.421%, the content of verbascoside ranged from 0.1% to 0.271% in terms of dry raw material.

Keywords: *black horehound, ballota nigra, high-performance liquid chromatography, biologically active substances, verbascoside, chlorogenic acid, caffeic acid.*

REFERENCES

1. Medicinal Herbs in the Relief of Neurological, Cardiovascular, and Respiratory Symptoms after COVID-19 Infection A Literature Review / J. Nawrot [et al.] // Cells. 2022 Vol. 11(12). DOI: 10.3390/cells11121897.
2. Phytochemical profile of three Ballota species essential oils and evaluation of the effects on human cancer cells / D. Rigano [et al.] // Natural product research. 2017. Vol. 31(4). P.436-444.
3. Effects of Ballota nigra on glucose and insulin in alloxan-diabetic albino rats / M.K Nuiser [et al.] // Neuroendocrinology Letters. 2007. Vol. 28(4). P.470-472.
4. Hashemi F, Zarei M. A. Tyrosinase inhibitory activity within hexane extract of ten screened plants from Kurdistan Province of Iran // Int. J. Adv. Biol. Biomed. Res. 2014. Vol. 2. P. 2795- 2799.
5. Neurosedative and Antioxidant Activities of Phenylpropanoids from Ballota nigra / D A Daels-Rakotoarison [et al.] // Arzneimittelforschung. 2000. Vol. 50(1). P.16-23. DOI: 10.1055/s-0031-1300158.
6. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus: in 2 vol. Vol. 2. Quality control of substances for pharmaceutical use and medicinal plant raw materials. / Ministry of Health of the Republic of Belarus; Republican Unitary Enterprise «Center for Expertise and Testing in Healthcare». 2nd ed. Minsk, 2016. 1367 p. (In Russ)

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**XV ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
МОЛОДЕЖНОГО НАУЧНОГО ОБЩЕСТВА**

«МОЛОДАЯ ФАРМАЦИЯ – ПОТЕНЦИАЛ БУДУЩЕГО»

07 апреля 2025 года

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ КОНФЕРЕНЦИИ
PROCEEDINGS OF THE CONFERENCE**

