

УДК 615.322:582.929:543.544.5.068.7

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ ШАЛФЕЯ МУЧНИСТОГО (SALVIA FARINACEA BENTH.)

O.I. Попова, А.С. Никитина, Е.А. Азрякова

Пятигорский медико-фармацевтический институт –
филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск

QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE AMOUNT OF FLAVONOIDS IN THE HERB OF SALVIA FARINACEA BENTH.

O.I. Popova, A.S. Nikitina, E.A. Azryakova

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk
E-mail: lina_nikitina@mail.ru

Проведённые хроматографические исследования позволили определить наличие в сырье шалфея мучнистого флавоноидов: рутина, кверцетина, гиперозида и 5 фенолкарбоновых кислот: кофейной, п-кумаровой, феруловой, галловой и коричной. Количественное определение суммы флавоноидов в шалфее мучнистом проводили методом дифференциальной спектрофотометрии, оно составило 0,55-0,60% в пересчете на рутин. Проведенные исследования позволили расширить научные данные о фенольных соединениях шалфея мучнистого и предложить возможность переработки, контроля заготовки и целевого использования шалфея мучнистого травы в фармации и медицине.

Ключевые слова: шалфей мучнистый, флавоноиды, хроматографические методы анализа, спектрофотометрия.

Род Сальвия (*Salvia* L.) – крупный род многолетних травянистых растений и кустарников семейства яснотковые (Lamiaceae L.). Все виды этого рода являются эфирномасличными; ряд из них вошли в культуру как лекарственные: шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.), шалфей мускатный (*Salvia sclarea* L.), шалфей эфиопский (*Salvia aethiopis* L.) [5, 12]. Шалфей мучнистый не является лекарственным растением, в лице-

Chromatographic researches conducted have allowed determination of the flavonoids presence in raw materials of *Salvia farinacea* Benth. They were rutin, quercetin, hyperoside, and 5 phenol carbonic acids: caffeic, p-coumaric, ferulic, gallic, and cinnamic acids. The quantitative content of the sum of flavonoids in *Salvia farinacea* Benth. was conducted by the method of differential spectrophotometry, and it amounted to 0.55-0.60% in terms of rutin. The research conducted made it possible to expand the scientific data of phenolic compounds of *Salvia farinacea* Benth. and to offer the possibility of recycling, monitoring procurement and targeted use of *Salvia farinacea* Benth. herb in pharmacy and medicine.

Keywords: *Salvia farinacea* Benth., flavonoids, chromatographic methods of analysis, spectrophotometry.

Salvia L. genus is a big genus of perennial grassy plants and brushes from the Lamiaceae L. family. All species of this genus have essential oils; the whole range of them entered the cultivation as medicinal plants, for example *Salvia officinalis* L., *Salvia sclarea* L., *Salvia aethiopis* L. [5, 11]. *Salvia farinacea* Benth. is not a medicinal plant, there are small data about its chemical composition and quantitative content of some biologically

ратуре имеются ограниченные сведения о его химическом составе и количественном содержании некоторых биологически активных веществ (БАВ). В народной медицине отвары и настои из шалфея мучнистого широко используются при головной боли, для лечения простуд, отравлений [12, 13].

Шалфей мучнистый (*Salvia farinacea* Benth.) – неприхотливое долгоцветущее многолетнее травянистое растение высотой до 1 м. Листья продолговато-яйцевидные, с острой или тупой верхушкой, клиновидным основанием, волнистые или цельнокрайние, голые, слегка опущенные лишь по жилкам. Соцветия длиной 15-20 см, на высоких цветоносах. Ось соцветия и чашечки густо опущены темно-синими, реже светло-серыми, короткими волосками. Венчик темно-синий, редко белый. Цветет с середины августа до поздней осени. Декоративную ценность представляют живописные кусты с рыхлыми соцветиями лилово-синей гаммы, служащие фоном для других однолетних культур в групповых посадках. В природе они живут несколько лет, но в более суровом климате в открытом грунте не зимуют, поэтому выращиваются как летники. Длительный период от прорастания до цветения (около 100 дней) обуславливает обязательность рассадного способа выращивания. Родиной шалфея мучнистого являются тропики и влажные субтропики Америки, Техас, Новая Мексика [5, 13, 15].

Сведения о содержании в траве шалфея мучнистого фенольных соединений и их качественном составе в научной литературе отсутствуют. Поэтому целью настоящего исследования являлось изучить качественный состав фенольных соединений травы шалфея мучнистого и определить количественное содержание суммы флавоноидов в сырье [8, 11].

Экспериментальная часть

Образцы сырья (травы) шалфея мучнистого заготавливали в ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института в 2011-2013 годах на экспериментальных участках в фазу цветения, где рас-

active substances (BAS) in the literature. Decoctions and infusions of *Salvia farinacea* Benth. are widely used in folk medicine for headache treatment as well as for treatment of cold and toxicoses [12, 13]

Salvia farinacea Benth. is an easy to keep, long blossom perennial grassy plant 1 m tall. Leaves are oviform, flexuose or smooth-edged, bare, with little fuzz along the veins. Inflorescences are 15-20 cm long, on high flower stalks. Rhachis and cups have dense dark-blue, rarely light-gray short fuzz. Corolla is dark-blue, rarely white. Blossom is from the middle of August to the late autumn. Picturesque brushes with crumbly lilac-blue colored inflorescences have a decorative value. They are a background for other annual plants in group beddings. In natural conditions they live several years, but they do not hibernate in more severe climate in an open ground, so they are cultivated as a summer plant. The long period of growing till blossom (about 100 days) conditions the necessity of germination method. *Salvia farinacea* Benth. native land are humid subtropics of America, Texas, New Mexico [5, 13, 15].

There are no data about the content of phenolic compounds in *Salvia farinacea* Benth. and their qualitative composition in scientific literature. Therefore the purpose for this study was to investigate a qualitative content of phenolic compounds in a herb of *Salvia farinacea* Benth. and to determine the quantitative content of flavonoids sum in raw materials [8, 11].

Experimental part

Raw materials samples (herb) of *Salvia farinacea* Benth. was stocked in a botanical garden of the institute (PMPI) in 2010-20123 on the experimental grounds at blossom, where the plant was introduced from the seeds. The seeds were bought in flower stores of the Caucasus Mineral Water region (Pyatigorsk, Mineralnye Vody, Rassvet Company). Raw materials were dried out with air-shadow method.

Preliminary qualitative reactions for the presence of flavonoids in the raw materials were carried out by the extraction, obtained in accordance with the method described in SP XI vol. 2, in "Herb of Hyperiaim" article [SP].

1 ml of extracts was added with 2 ml of 2%

тение интродуцировано из семян. Семена получали из Ставропольского НИИ Сельского хозяйства, сорт «Голубой иней». Сыре сушили воздушно-теневым способом.

Качественные реакции на присутствие в сырье флавоноидов проводили с извлечением, полученным согласно методике, описанной в ГФ XI вып.2 , в частной статье «Трава зверобоя».

К 1 мл извлечения прибавляли 2 мл 2% раствора алюминия хлорида в 95% этаноле и 7 мл 95% этанола; раствор окрашивался в зеленовато-желтый цвет.

К 2 мл извлечения добавляли 0,5 г цинковой пыли и 1 мл кислоты хлористоводородной концентрированной. Постепенно при нагревании на водяной бане появлялось розовое окрашивание (цианидиновая проба) [3, 4, 6].

Для установления качественного состава фенольных соединений из травы шалфея мучнистого получали извлечения с использованием спирта этилового 40% и 70%, соотношение сырья и экстрагента составляло 1:10, процесс проводили на водяной бане при температуре 60-70°C в течение часа. Качественный состав фенольных соединений исследовали с помощью бумажной и тонкослойной хроматографии. На линию старта хроматографической бумаги с помощью микроширица наносили в виде точки 0,1 мл 40% и 70% спиртовых извлечений и 0,05% спиртовые растворы рутина, кверцетина, гиперозида, феруловой и галловой кислот. Бумагу с нанесенными пробами высушивали на воздухе и помещали в камеру со смесью растворителей: н-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:5), предварительно насыщенную в течение часа и хроматографировали восходящим способом. Хроматографирование проводили в течение 18-20 часов. После достижения фронтом растворителей линии финиша, бумагу вынимали, высушивали и просматривали в УФ-свете. Результаты хроматографирования представлены в таблице 1. Методом бумажной хроматографии в извлечениях идентифицировали рутин, кверцетин, галловую и феруловую кислоты [1, 7, 10, 14].

solution of aluminum chloride in 95% ethanol and 7 ml of 95% ethanol; the solution was colored with greenish-yellow.

2 ml of extract were added with 0.5 g of zinc dust and 1 ml of concentrated hydrochloric acid. Gradually, after the heating on a water bath, pink color appeared (cyanidine probe) [3, 4, 6].

Preliminary qualitative reactions for the presence of flavonoids in the raw materials were carried out by the extraction, obtained in accordance with the method described in SP XI vol. 2, in “Herb of Hyperiaim” article [SP]. 1 ml of extracts was added with 2 ml of 2% solution of aluminum chloride in 95% ethanol and 7 ml of 95% ethanol; the solution was colored with greenish-yellow. 2 ml of extract were added with 0.5 g of zinc dust and 1 ml of concentrated hydrochloric acid. Gradually, after the heating on a water bath, pink color appeared (cyanidine probe) [3, 4, 6].

To establish a qualitative composition of phenolic compounds from the grass of *Salvia farinacea* Benth. we obtained extracts using 40% and 70% ethanol, raw materials and extragent relation was equal to 1:10. The process was carried out on a water bath at temperature 60-70°C within one hour. Qualitative composition of phenolic compounds was studied using paper and thin-layer chromatography. 40% and 70% of alcohol extracts and 0.05% of alcohol solutions of rutin, quercetine, hyperoside, ferulic and gallic acids were placed as a point of 0.1 ml on the line of chromatographic paper with microsyringe. The paper with probes was dried out in the air and placed into a chamber with solvents blend: n-butanol – glacial acetic acid – water (4:1:5), preliminary saturated within a year and chromatographed using ascending technique. Chromatography was done during 18-20 hours. After the solvents reached the finish line the paper was took out, dried out, and examined in UV light. The results of chromatography are shown in the table 1. By using the paper chromatography we have identified rutin, quercetine, gallic and ferulic acids [1, 7, 10, 14].

Таблица 1 – Значения Rf и окраска пятен 40% и 70% спиртовых извлечений шалфея мучнистого (метод бумажной хроматографии)
Table 1 – Rf values and spots coloration of 40% and 70% alcohol extracts of *Salvia farinacea* Benth. (paper chromatography)

№ пятна / No of spot	40% спиртовое извлечение / 40% alcohol extract		70% спиртовое извлечение / 70% alcohol extract	
	Значение Rf / Rf value	Окраска пятна в УФ-свете / Spot color in UV light	Значение Rf / Rf value	Окраска пятна в УФ- свете / Spot color in UV light
1	0.0075	Темно-бурая / Dark-brown	0.084	Темно-бурая / Dark-brown
2	0.47	Светло-голубая / Light-blue	0.24	Светло-голубая / Light-blue
3	---	---	0.47	Светло-голубая / Light-blue
4	---	---	0.65	Светло-зеленая / Light-green
5	---	---	0.85	Светло-голубая / Light-blue

Для тонкослойной хроматографии использовали пластиинки «Сорб菲尔 ПТСХ-АФ-А-УФ» и «Силуфол УФ». На линию старта пластиинок с помощью микроширица в виде точки наносили по 0,05 мл 40% и 70% спиртового извлечения шалфея мучнистого и спиртовые растворы стандартных образцов. Пластиинку с нанесенными пробами высушивали на воздухе в течение 10 минут, помещали в камеру со смесью растворителей бутанол: кислота уксусная ледяная: вода (4:1:5), предварительно насыщенную в течение 40 минут и хроматографировали восходящим способом. После прохождения фронтом растворителей 10 см пластиинку вынимали, высушивали в вытяжном шкафу в течение 20 минут и просматривали в УФ-свете. На хроматограмме наблюдали пятна (коричневое – рутин, желтое – кверцетин). После обработки 2% спиртовым раствором алюминия хлорида и нагревания в течение 3 минут в сушильном шкафу при температуре 100-105 °C, пятна фенольных соединений приобрели желтую окраску в видимом и желто-зеленую флуоресценцию в УФ-свете [6, 7, 15]. Таким образом, методами хроматографического анализа в спиртовых извлечениях шалфея мучнистого установлено наличие рутина, кверцетина, гиперозида, а также галловой и феруловой кислот. Для более детального изучения фенольных соединений травы шалфея мучнистого использовали метод ВЭЖХ [2, 9]. Исследование проведено на факультете химии и высоких технологий Кубанского государственного университета.

For a thin-layer chromatography we used Sorbfil PTSH-AF-A-UF and Silufol UF plates. 0.05 ml spots of 40% and 70% alcohol extract of *Salvia farinacea* Benth. and alcohol solutions of standard samples were placed on a start line with a microsyringe. The plate with probes was dried out in the air during 10 minutes, then placed into a chamber with solvents blend butanol: glacial acetic acid:water (4:1:5), preliminary saturated during 40 minutes, and then it was chromatographed using ascending technique. After the reaching of 10 cm by the solvents, the plate was took out, dried out in the draught cupboard during 20 minutes and examined in UV-light. Chromatogramm showed spots (brown – rutin, yellow – quercetine). After the processing with 2% alcohol solution of aluminum chloride and heating during 3 minutes in a draught cupboard at temperature 100-105 °C, the spots of fenolic compounds acquired yellow color in visible and yellow-green fluorescence in UV light [6, 7, 15]. Thus, using the methods of chromatographic analysis in alcohol extracts of *Salvia farinacea* Benth. we have found the presence of rutin, quercetine, heperoside, as well as gallic and ferulic acids. For more detailed investigation of phenolic compounds of the grass of *Salvia farinacea* Benth. we used HPLC [2, 9]. The study was carried out at the Department of Chemistry and High Technologies at Kuban State University.

Для исследования использовали извлечение, полученное с помощью спирта этилового 70%. Спиртовое извлечение перед хроматографированием разбавляли (1:10) смесью ацетонитрил-фосфатный буфер (1:1). Исследование проводили методом обращенно-фазной жидкостной хроматографии, обеспечивающим высокое разрешение и чувствительность. Условия хроматографирования подобраны с учетом физико-химических свойств биологически активных веществ в растительном сырье, варьируя состав элюента и длину волны детектирования. Анализ проведен на хроматографе Shimadzu LC 20 Prominence с последующей компьютерной обработкой результатов исследования в среде программы LC Soluton. Диодно-матричное детектирование в УФ-области спектра позволило оценить спектральные характеристики разделенных компонентов по хроматограмме и получить дополнительную информацию для их идентификации.

Оптимальные результаты элюирования были получены в бинарной градиентной системе: ацетонитрил-водный раствор калия дигидрофосфата (0,04 М), подкисленный кислотой фосфорной до pH 2,8. Хроматографирование проводили на колонке Zorbax SB C18, размерами $150 \times 2,1$ мм, заполненной частицами сорбента 5 мкм (Agilent). Скорость потока элюента составила 0,25 мл/мин, температура термостата и ячейки детектора – 35 °C. Объем пробы – 5 мкл. При проведении анализа использовали градиентный ступенчатый режим поступления элюента (табл. 2).

Таблица 2 – Характеристики градиентного ступенчатого режима поступления элюента

Table 2 – Characteristics of a gradient stepped regime of eluent inflow

Ступень / Stage	Время экспозиции, мин / Exposition time, min	Концентрация ацетонитрила в фосфатном буфере, % / Concentration of acetonitrile in phosphate buffer, %
1	0-3	3
2	4-9	3-5
3	9-19	5-20
4	19-27	20-40

For this study we used an extract, obtained with 70% ethanol. Alcohol extract was diluted (1:10) with the blend of acetonitrile-phosphate buffer (1:1) before the chromatography. The study was carried out by using the reversed-phase chromatography, which provides a high definition and sensitivity. The conditions of chromatography were composed in respect to the physical and chemical properties of BAS in plant raw materials, changing the composition of the eluent and the detection wave length. The analysis was carried out in Shimadzu LC 20 Prominence chromatographer with the following computer processing using LC Solution program. Diode-array detection in UV spectrum allowed evaluation of spectral characteristics of divided components by the chromatography and to receive an additional information for their identification.

Optimal results of elution were received in binary gradient system: acetonitrile-potassium dehydrophosphate water solution (0.04 M), acidified with phosphoric acid to pH 2.8. Chromatography was done on a Zorbax SB C18 column with sizes 150×2.1 mm, filled with sorbent particles 5 μm (Agilent). The eluent flow velocity was equal to 0.25 ml/min, thermostat temperature and detector cell amounted to 35 °C. Sample volume amounted to 5 μm. To carry out the analysis we used gradient stepped regime of eluent inflow (table 2).

Детектирование веществ проводили при трех длинах волн (280 нм, 322 нм, 370 нм), идентифицировали по времени удерживания и спектрам поглощения растворов стандартных образцов, предварительно хроматографируя каждый из них в отдельности. Результаты качественного анализа спиртового извлечения из травы шалфея мучнистого представлены на рисунке 1 и в таблице 3.

Detection of the substances was carried out at three wave lengths (280 nm, 322 nm, 370 nm). For their identification we used a retention time and absorption spectrums of standard samples, preliminary having chromatographed each of them separately. The results of the qualitative analysis of the alcohol extract from the grass of *Salvia farinacea* Benth. Are represented in the figure 1 and in the table 3.

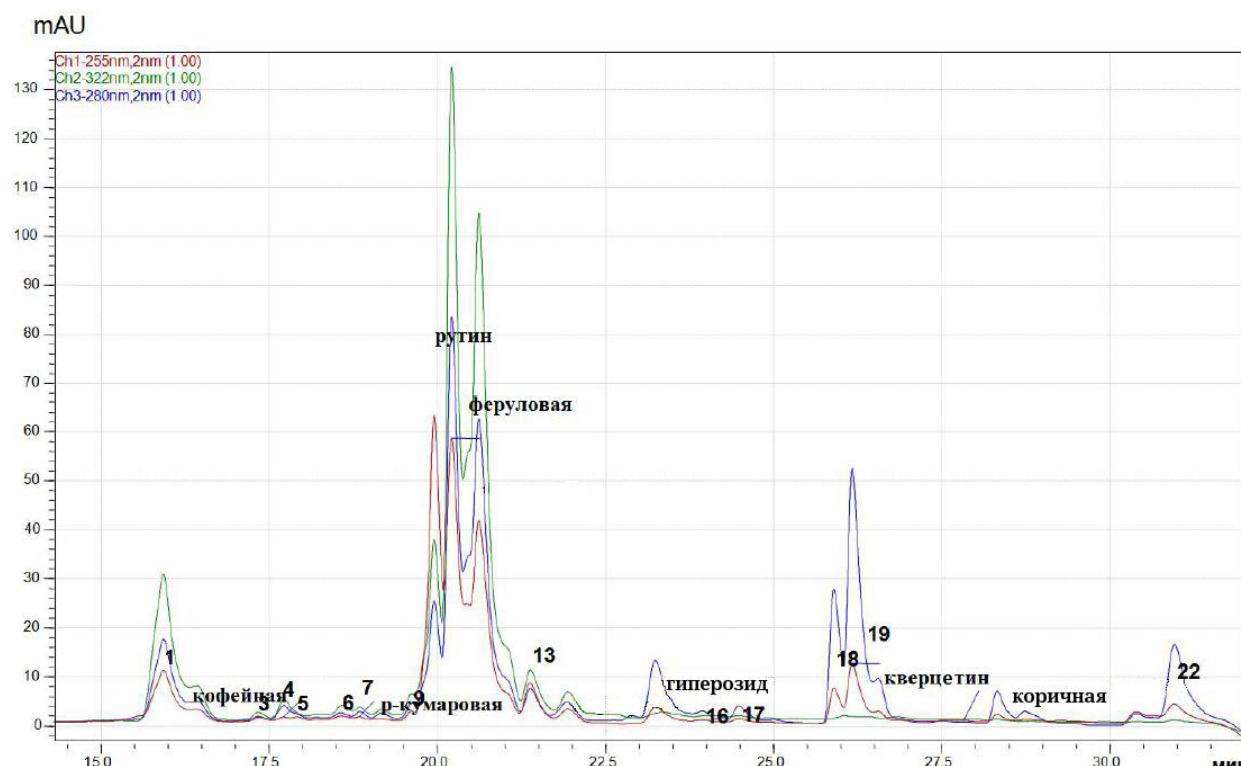


Рисунок 1 – Хроматограмма фенольных соединений травы шалфея мучнистого
Figure 1 – Chromatogram of phenolic compounds of the grass of *Salvia farinacea* Benth.

С помощью метода ВЭЖХ в траве шалфея мучнистого обнаружено 20 веществ фенольной природы, из них идентифицировано 4 фенолокислоты (кофейная, п-кумаровая, феруловая и коричная) и три флавоноида (рутин, гиперозид и кверцетин).

Количественное определение флавоноидов проводили по методике, описанной в ГФ XI вып.2, в частной статье «Трава зверобоя» [4]. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, прибавляли 30 мл 40% спирта. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей бане в тече-

Using HPLC method we have discovered 20 substances of phenolic nature in the grass of *Salvia farinacea* Benth. Of this amount 4 phenolic compounds were identified (coffeic, p-coumaric, ferulic, and cinnamic), and three flavonoids (rutin, hyperoside, and quercetine).

Qualitative determination of flavonoids was carried out following the method, described in SP XI vol. 2, in the “Herb of Hyperiaim” article [4]. The analytical sample of the raw materials was milled up to the sizes of particles, which pass through a sieve with 1 mm pores. About 1 g (precise weighing) of milled raw materials was placed into 150 ml flask with a slice, and then it was added with 30 ml of 40% alcohol. The flask was connected to the reversed condenser and heated on a boiling bath during 30 minutes,

Таблица 3 – Результаты качественного анализа спиртового извлечения из травы шалфея мучнистого методом ВЭЖХ

Table 3 – The results of a qualitative analysis of the alcohol extract from the grass of *Salvia farinacea* Benth. using HPLC

Название пика / Peak name	Время удерживания мин / Retention time, min	Длины волн максимумов пиков спектров, соответствующих хроматографическим максимумам, нм / Wave lengths of maximums of spectrum peaks, which correspond to the chromatographic maximums, nm	Площадь пика, mAU×мин / Peak square, mAU×min	Число теоретических тарелок / Number of theoretical plate
1	2	3	4	5
1	15.95	326/217	236662	11910
Кофеинная кислота / Cofeic acid	16.81	327	36922	1399
3	17.34	320	8701	52161
4	17.71	313	7062	19780
5	17.91	311/284	6188	36355
6	18.57	327	11440	25469
7	18.84	311	6640	28010
П-кумаровая кислота / P-coumaric acid	19.13	321	5181	28362
9	19.62	321	13546	14152
Рутин / Rutin	19.95	202/255/353	761662	57266
Феруловая кислота / Ferulic acid	20.21	197/329	743633	45944
13	21.38	331/265	120681	46480
Гиперозид / Hyperoside	23.24	201/227/279/327	57673	40056
15	23.94	200/283/327	5785	36318
16	24.48	197/282/320	7929	79883
17	25.90	201/228/277/320/373	72640	109844
18	26.17	198/227/278/319	160437	90157
Кверцетин / Quercetine	26.55	198/226/280/317	18825	11280
Коричная кислота / Cinnamic acid	28.32	201/281/320	15286	148907

ние 30 минут, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтровали через вату в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. Вату помещали в колбу для экстрагирования и прибавляли 30 мл 40% спирта. Экстрак-

sometimes shaking to wash the raw materials particles from the flask walls. Hot extract was filtered through a cotton wool into a measuring flask 100 ml volume, so the particles of raw materials would not touch the filter. Cotton wool was placed into the flask for the extraction and added with 30 ml of 40% alcohol. Extraction

цию повторяли еще дважды в описанных выше условиях, фильтруя извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводили 40% спиртом до метки и перемешивали (раствор А). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1 мл раствора А, 1 мл раствора алюминия хлорида в 95% спирте этиловом и доводили объем раствора 95% спиртом этиловым до метки. Через 40 минут измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 1 мл извлечения, 1 капли кислоты уксусной и доведенный 95% спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Расчет содержания флавоноидов проводили в пересчете на рутин. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца (СО) рутина. Содержание суммы флавоноидов в траве шалфея мучнистого составило 0,55-0,60%. Расчет вели в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X%) по формуле:

$$X = \frac{D_x \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 100 \cdot (100 - W)}$$

где D_x – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора СО рутина;

m – масса сырья в граммах;

m_0 – масса СО рутина в граммах;

W – потеря массы при высушивании в процентах.

Приготовление раствора стандартного образца (СО) рутина: около 0,05 г (точная навеска) СО рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135 °C в течение 3 ч, растворяют в 85 мл 95% спирта этилового в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают [4].

Динамику накопления флавоноидов определяли в сырье шалфея мучнистого, заготовленном в 2011-2013 гг. Было установлено,

was repeated two times in the conditions mentioned above, filtering the extract into the same measuring flask. After cooling, the volume of the extract was brought to the mark with 40% alcohol and mixed (solution A). One ml of the solution A was poured into a 25 ml flask, 1 ml of aluminum chloride in 95% alcohol was brought to the mark with 95% ethanol. In 40 minutes, an optical density of the solution was measured in the spectrophotometer at the wave length 415 nm in a cuvet with layer thickness of 10 mm. A solution composed from 1 ml of extract, 1 drop of acetic acid, and brought to the mark with 95% alcohol in the 25 ml measuring flask was used as a comparison solution. The calculation of flavonoid content was carried out in terms of rutin. At the same time we measured optical density of a solution of standard rutin sample. The content of total flavonoids in the grass of *Salvia farinacea* Benth. and absolutely dry materials in per cent (X%) was calculated using the following formula:

$$X = \frac{D_x \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 100 \cdot (100 - W)}$$

where D_x is an optical density of the solution under study;

D_0 is an optical density of the solution of a standard rutin sample;

m is the raw material mass in grams;

m_0 is a mass of the standard rutin sample in grams;

W is a loss of mass after the drying out in per cent.

Preparation of rutin standard sample solution: about 0.05 (accurate weighing) of rutin standard sample, previously dried out at 130-135°C during 3 hours, are desolved in 85 ml of 95% ethanol in 100 ml measuring flask while heating in water bath, then cooled, quantatively relocated into 100 ml measuring flask, and the solution volume is brought to the mark by the same alcohol, and then blended [4].

The dynamics of the flavonoids accumulation was determined in the raw materials of *Salvia farinacea* Benth., gathered in 2011-2013.

что наибольшее накопление флавоноидов в надземной части происходило в траве шалфея лекарственного, заготовленного на более инсолированных опытных участках, эти растения характеризовались наибольшей олиственностью и величиной куста. Содержание суммы флавоноидов в 2011 году варьировало от 0,55% до 0,58%, в 2012 году – 0,56-0,60%, в 2013 году – 0,55-0,60%.

Выводы

Таким образом, методами хроматографического анализа в траве шалфея мучнистого идентифицировано 9 веществ фенольной природы: флавоноиды – рутин, кверцетин, гиперозид; и 5 фенолкарбоновых кислот: кофейная, п-кумаровая, феруловая, галловая и коричная. Количественное содержание суммы флавоноидов в шалфее мучнистом составляет 0,55-0,60%. Проведенные исследования позволили расширить научные данные о фенольных соединениях шалфея мучнистого и предложить методику анализа шалфея мучнистого травы в фармации и медицине.

Библиографический список

1. Беликов В.В, Шрайбер М.С. Методы анализа флавоноидных соединений // Фармация. 1970. №1. С. 68-72.
2. Ганина М.М., Попова О.И. Содержание фенольных соединений в побегах багульника стелющегося (*Ledum decumbens* Lodd.ex Stend), произрастающего на территории Ямalo-Ненецкого автономного округа // Химико-фармацевтический журнал. 2015. Т. 49, №7. С.33-36.
3. Государственная фармакопея СССР. – Вып.1: Общие методы анализа / МЗ СССР.-11-е изд., доп.-М.: Медицина, 1987.- 336 с.
4. Государственная фармакопея СССР. – Вып.2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.

We have established that more intensive accumulation of flavonoids took place in the raw materials of *Salvia farinacea* Benth., gathered in more isolated experimental grounds. These plants had more leaves and the bush sizes. The content of total flavonoids in 2011 varied from 0.55% to 0.58%, in 2012 it was 0.56-0.60%, in 2013 there was 0.55-0.60%.

Conclusions

Thus, using the chromatographic analysis we have identified 9 substances of phenolic nature in the grass of *Salvia farinacea* Benth. There were flavonoids – rutin, quercetine, hyperoside; and 5 phenolcarbonylic acids which included caffeic, p-coumaric, ferulic, gallic, and cinnamic acids. Quantitative content of total flavonoids in *Salvia farinacea* Benth. amounted to 0.55-0.60%. The studies conducted allowed broadening of scientific data about phenolic compounds of *Salvia farinacea* Benth. and to offer the opportunity for the processing of *Salvia farinacea* Benth. in pharmacy and medicine.

References

1. Belikov V.V, Shraiber M.S. Metody analiza flavonoidnykh soedinenii [Methods for the analysis of flavonoid compounds]. Farmatsiia [Pharmacy], 1970, no. 1, pp. 68-72.
2. Ganina M.M., Popova O.I. Soderzhanie fenol'nykh soedinenii v pobegakh bagul'nika steliushchegosia (*Ledum decumbens* Lodd. ex Stend), proizrastaiushchego na territorii Iamalo-Nenetskogo avtonomnogo okruga [Content of phenolic compounds in sprouts of *Ledum decumbens* Lodd.ex Stend, which grows in Yamalo-Nenets Autonomous Okrug]. Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal [Chemical and pharmaceutical journal], 2015, vol. 49, no. 7, pp.33-36.
3. Gosudarstvennaia farmakopeia SSSR: Vyp.1. Obshchie metody analiza MZ SSSR, 11-e izd., dop. [State pharmacopoeia of the USSR. Issue 1. General methods of analysis. Ministry of Healthcare of the USSR, 11th edition revised and enlarged], Moscow, Meditsina [Medicine], 1987, p. 333.
4. Gosudarstvennaia farmakopeia SSSR: Vyp.2. Obshchie metody analiza. Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e. – 11-e izd., dop.

5. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx> (дата обращения: 10.06.15).
6. Гриневич Н.И., Сафонич Л.Н. Химический анализ лекарственных растений. М.: Высшая школа, 1983. С. 47-56.
7. Губанова А.Е., Попова О.И. Фенольные соединения некоторых видов *Salvia* (Lamiaceae) флоры России и их биологическая активность // Растительные ресурсы. 2009. Т.45, вып. 3. С.137-160.
8. Исследования по формированию модели и методического обеспечения оценки качества фармацевтических услуг в фитотерапии на курортах Кавказских Минеральных Вод / И.В. Попов, В.В. Козлова, О.И. Попова и др. // Фармация и фармакология. – 2015. – №2(9). – С.67-71.
9. Киселева, Н.В. ВЭЖХ – определение фенольных соединений календулы аптечной и шалфея лекарственного / Н.В. Киселева, Н.А. Верниковская, В.В. Мильевская // Тез. докл. 66-ой регион. конф. по фармации и фармакологии. – Пятигорск, 2011. – С. 109-111.
10. Лазурьевский Г.В., Терентьев И.В., Шамшурин А.А., Практические работы по химии природных соединений. М.: Высшая школа, 1996. С. 113-115.
11. Максютина Н.П., Литвиненко В.И. Фенольные соединения и их физиологические функции. М., 1968. С. 7-21.
12. Махлаюк В.П. Лекарственные растения в народной медицине. – М.: Нива, 1991. – 456 с.
13. Плантариум [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.planarium.ru/page/view/item/47106.html> (дата обращения: 10.06.15).
14. Попова О.И., Никитина А.С. Змееголовник молдавский и иссоп лекарственный: [State pharmacopoeia of the USSR. Issue 1. General methods of analysis. Drug plant raw materials, 11th edition revised and enlarged], Moscow, Meditsina [Medicine], 1990. – 3 s.
5. Gos. Reestr lekarstvennykh sredstv [State Register of Drugs] [Electronic resource]. Access mode: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx> (date of access: 10.06.15).
6. Grinkevich N.I., Safronich L.N. Khimicheskii analiz lekarstvennykh rastenii [Chemical analysis of drug plants]. Moscow, Vysshiaia shk [Higher school], 1983, pp. 47-56.
7. Gubanova A.E., Popova O.I. Fenol'nye soedinniya nekotorykh vidov Salvia (Lamiaceae) flory Rossii i ikh biologicheskaiia aktivnost' [Phenolic compounds of some species of Salvia (Lamiaceae) of the Russian flora and their biological activity]. Rastitel'nye resursy [Plant resources], 2009, vol. 45, issue 3, pp. 137-160.
8. Popov I.V., Kozlova V.V., Popova O.I., Konovalov D.A. Issledovaniia po formirovaniu modeli i metodicheskogo obespecheniya otsenki kachestva farmatsevticheskikh uslug v fitoterapii na kurortakh Kavkazskikh Mineral'nykh Vod [Studies for the formation of models of methodological estimation of pharmaceutical services quality in phytotherapy on the resorts of Caucasus Mineral Waters]. Farmatsiiia i farmakologiiia [Pharmacy and pharmacology], 2015, no. 2(9), pp. 67-71.
9. Kiseleva N.V., Vernikovskaia N.A., Millevskaia V.V. VEZhKh opredelenie fenol'nykh soedinenii kalenduly aptechnoi i shalfeia lekarstvennogo. [HPLC determination of phenolic compounds of Calendula officinalis and Saliva officinalis]. Tez. dokl. 66-oi region. konf. po farmatsii i farmakologii [Thesis report of 66th regional conference on pharmacy and pharmacology], Pyatigorsk, 2011, pp. 109-111.
10. Lazur'evskii G.V., Terent'ev I.V., Shamshurin A.A. Prakticheskie raboty po khimii prirodykh soedinenii [Practical works on chemistry of natural compounds]. Moscow, Vysshiaia shk. [Higher school], 1996, pp. 113-115.
11. Maksiutina N.P., Litvinenko V.I. Fenol'nye soedinenia i ikh fiziologicheskie funktsii [Phenolic compounds and their physiologic functions], Moscow, 1968, pp. 7-21.
12. Makhlaik V.P. Lekarstvennye rastenii v narodnoi meditsine [Drug plants in folk medicine], Moscow, Niva, 1991, pp. 456.
13. Plantarium [Electronic resource], Access

- современный взгляд на растения. – Волгоград, 2014. 226 с.
15. Фитохимическое исследование и стандартизация сырья растений семейства яснотковые (Lamiaceae), интродуцируемых в Ставропольском крае / О.И. Попова, В.В. Чумакова, А.С. Никитина и др. // Вопр. биол., мед. и фармац. химии. – 2010. – №9. – С. 11-17.
- mode: <http://www.plantarium.ru/page/view/item/47106.html> (date of access: 10.06.15).
14. Popova O.I., Nikitina A.S. Zmeegolovnik moldavskii i issop lekarstvennyi: sovremennyi vzgliad na rasteniiia [Dracocephalum moldavicum and Hyssopus officinalis: contemporary view of the plants]. Volgograd, 2014, p. 226.
15. Popova O.I., Chumakova V.V., Nikitina A.S. et al. Fitokhimicheskoe issledovanie i standartizatsiya syr'ia rastenii semeistva iasnotkovye (Lamiaceae), introdutsiruemых v Stavropol'skom krae [Phytochemical investigations and standardization of the raw materials of the Lamiaceae family plants, introduced in Stavropol krai]. Vopr. Biol., med. i farmats. Khimii [Problems of biological, medical, and pharmaceutical chemistry], 2010, no. 9, pp. 11-17.

* * *

* * *

Попова Ольга Ивановна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакогности Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: изучение лекарственных растений.

Никитина Ангелина Сергеевна – кандидат фармацевтических наук, преподаватель кафедры фармакогности Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: изучение лекарственных растений. E-mail: lina_nikitina@mail.ru

Азрякова Евгения Андреевна – студент Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: изучение лекарственных растений.

Popova Olga Ivanovna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor of the Pharmacognosy Department at Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia. Area of expertise: investigation of medicinal plants.

Nikitina Angelina Sergeevna – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Lecturer of the Pharmacognosy Department at Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia. Area of expertise: investigation of medicinal plants. E-mail: lina_nikitina@mail.ru

Azryakova Evgeniya Andreevna – student of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia. Area of expertise: investigation of medicinal plants.