

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ  
ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ ГЛУХОЙ КРАПИВЫ (ЯСНОТКА  
БЕЛАЯ) – LAMIUM ALBUM L. И БАРБАРИСА – BERBERUS L.**

**Л. В. АТАБЕКЯН**

Горисский государственный университет  
Армения, 3205, Горис, ул. Авангарда, 4  
Факс: (374 284) 23603 E-mail: lilit\_a@mail.ru

Поступило 22 VIII 2011

Спектрофотометрическим методом определено количественное содержание флавоноидов в листьях глухой крапивы (*Lamium Album L.*) и барбариса (*Berberus L.*). Установлено, что суммарное содержание флавоноидов в спиртовых экстрактах исследованных листьев составляет: глухая крапива – 3.23, барбарис – 2.53 масс. %.

Рис. 2, табл. 1, библиографические ссылки 7.

Ранее в работах [1,2] нами были исследованы антиоксидантные действия более 40 экстрактов из различных лекарственных растений, ягод и семян. Установлено, что во всех экстрактах содержатся биологически активные вещества, обладающие антиоксидантными свойствами.

В соответствии с литературными данными [3,4], антиоксидантное действие экстрактов растений обусловлено содержанием в них флавоноидов, витаминов А, С, Е, Р, каротиноидов, аскорбиновой кислоты и т.д. Для подтверждения этого в данной работе спектрофотометрическим методом определено содержание суммы флавоноидов в листьях глухой крапивы (яснотка белая) – *Lamium L.* и барбариса – *Berberus L.* Выбор этих растений обусловлен тем, что, согласно [2], из исследованных нами лекарственных растений экстракты их листьев проявляют довольно высокую антиоксидантную активность и содержат сравнительно большое количество антиоксидантов.

*Глухая крапива* – многолетнее травянистое растение высотой 30-60 см с длинным корневищем с прямостоячими четырехгранными стеблями. Цветки и листья глухой крапивы в виде настоев применяются как

кровоостанавливающее средство при маточных, легочных, кишечных, геморроидальных кровотечениях. Настой цветков принимают при цистите, пиелите, нефрите, фурункулезе, крапивнице, экземе и других кожных заболеваниях.

**Химический состав.** Венчики содержат дубильное вещество, слизь, сахар, алкалоид, ламиин, эфирное масло, сапонины, цветки – флавоноиды, изокверцитин, гликозиды кемпферола, холин, гистамин, тирамин, витамин С, каротин. В листьях содержатся дубильные вещества, сапонины, витамин С и каротин.

**Барбарис обыкновенный** – сильноветвистый кустарник высотой 1-2,5 м. Встречается в лесостепных зонах Армении. Барбарис использовался еще в глубокой древности. Плоды его хорошо утоляют жажду, возбуждают аппетит, укрепляют мышцу сердца и обладают жаропонижающим, вяжущим, противовоспалительным и желчегонным действием. Настойку листьев применяют при малярийном увеличении селезенки и болезнях печени. В научной медицине применяют спиртовые настойки листьев и цветков барбариса как кровоостанавливающее и противовоспалительное средство.

**Химический состав.** Плоды содержат сахара, органические кислоты, минеральные соли и витамины. В листьях содержатся токоферолы – витамин Е, эфирное масло, флавоноиды и берберин.

### Экспериментальная часть

*Сбор и подготовка растительного сырья.* Листья глухой крапивы собирали в период цветения в апреле 2010 г. из огородов г. Гориса Республики Армения (1450 м над уровнем моря). Листья барбариса собирали в период зрелых плодов (сентябрь 2010 г.) в Воротанском ущелье Горисского региона (1000 м над уровнем моря). Собранные листья глухой крапивы и барбариса сушили в вакуумном шкафу при 40°C. Влажность листьев составляла соответственно 81.7 и 75.5 масс. % (сухие листья содержат: глухая крапива – 9.51, барбарис – 7.21% влажности). Сухие листья измельчали в керамической ступке (до размера частиц диаметром 1 мм). Из измельченной пудры флавоноиды экстрагировали 70% этиловым спиртом. Содержание флавоноидов определяли как качественно, так и количественно (см. обсуждение результатов). Количественное определение флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом с использованием комплексообразующего реагента – хлорида алюминия. В качестве эталона сравнения использовали комплекс рутина с хлоридом алюминия.

## Результаты и их обсуждение

**Качественное определение флавоноидов.** Для качественных реакций определения флавоноидов из исследованных сборов были получены соответствующие извлечения. С этой целью 1.0 г растительного сырья помещали в колбу, заливали 30 мл 70% этанола и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником 10 мин. Извлечение охлаждали, фильтровали через вату и проводили с ним следующие качественные реакции [5]:

*а) Проба Синода.* Брали две пробирки с одинаковым количеством полученного экстракта из листьев глухой крапивы (2 мл), прибавляли по 3 капли концентрированной хлористоводородной кислоты. Затем в одну из пробирок добавляли несколько крупинок металлического цинка, обе пробирки нагревали на водяной бане до кипения и оставляли для охлаждения на 5-10 мин. О присутствии в извлечении флавоноидов свидетельствовала желто-коричневая окраска продукта реакции.

*б) Реакция со щелочью.* К 1 мл полученного выше спиртового извлечения добавляли несколько капель 1% спиртового раствора гидроксида калия. Известно, что флавоны и флавонолы, растворяясь в щелочах, дают желтую окраску, а халконы и ауруны образуют красные или пурпурные растворы. В случае нашего экстракта получилась ярко-желтая окраска.

*в) Проба с 0.5% раствором хлорного железа (III).* К 1 мл полученного выше спиртового экстракта добавляли 1-2 капли раствора хлорного железа. Давать окраску с хлорным железом – общее свойство полиоксифенольного соединения. Ортооксифенольные группы в молекулах флавоноидов дают зеленую, триоксифенольные группы – синюю, а полиалкоксифлавоны – коричневую окраску. В случае нашего экстракта из листьев глухой крапивы получилась темно-коричневая окраска.

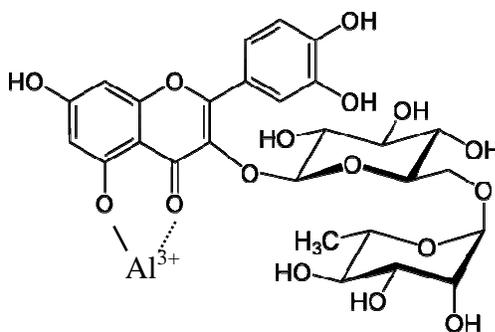
*г) Проба с хлоридом алюминия.* К 2 мл спиртового извлечения добавляли 3-5 капель 5% спиртового раствора реактива. При этом появлялось желтое окрашивание, что свидетельствует о наличии флавоноидов в исследованном экстракте.

*д) Реакция с 10% раствором основного ацетата свинца.* К 1 мл спиртового извлечения добавляли несколько капель 10% раствора основного ацетата свинца. Все флавоноиды с этим реактивом образуют окрашенные осадки от желтого до оранжевого цвета. В случае нашего экстракта получилась бледно-желтая окраска.

*е) Метод тонкослойной хроматографии.* По 20 мкл спиртового извлечения листьев глухой крапивы и барбариса микрошприцем МШ-10 наносили точками на линию старта пластинки Sorbfil, рядом наносили в виде точек 5 мкл раствора рутина. Пластинку с нанесенными пробами

высушивали на воздухе в течение 5 мин, затем помещали в камеру (предварительное насыщение камеры не менее 2 ч) с системой растворителей этилацетат–муравьиная кислота–уксусная кислота–вода, 100:11:11:26 мл, и хроматографировали восходящим способом. Когда фронт растворителей проходил 12 см, пластинку вынимали из камеры, высушивали в вытяжном шкафу в течение 10 мин и просматривали в УФ-свете при длине волны 360 нм [6]. На уровне пятен достоверного образца рутина ( $R_f \approx 0,47$ ) обнаруживали пятна желто-коричневого цвета. Затем пластинку опрыскивали 5% спиртовым раствором хлорида алюминия и нагревали ее в течение 2-3 мин в сушильном шкафу при температуре 100-105°C. При этом пятна приобретали бледно-желтую окраску в видимом и яркую лимонно-желтую окраску в УФ-свете.

**Количественное определение флавоноидов.** Количественное определение суммарного содержания флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом с использованием комплексообразующей реакции с хлоридом алюминия [7]. Показания снимали в УФ-области при длине волны 410 нм. Параллельно определяли оптическую плотность комплекса рутина с хлоридом алюминия. Пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих через сито с отверстиями диаметром 1 мм. 1.0 г измельченного сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, прибавляли 30 мл 70% этанола. Колбу присоединяли к обратному



холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сбора со стенок. Горячее извлечение отфильтровывали через вату в мерную колбу на 100 мл так, чтобы частицы сбора не попадали на фильтр. Вату помещали в колбу для дальнейшего экстрагирования и прибавляли 20 мл 70% этанола, экстракцию повторяли в описанных выше условиях еще два раза, фильтруя извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем доводили 70% этанолом до метки и перемешивали (раствор А).

**Приготовление 1% раствора алюминия хлорида в 96% этаноле.** 1.0 г хлорида алюминия (ГОСТ 3759-75, “ч.д.а.”) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 96% этаноле и доводили объем раствора этим же растворителем до метки.

**Приготовление раствора государственного стандартного образца (ГСО) рутина.** 0.02 г ГСО рутина (предварительно высушенного при температуре 130-135°C в течение 3 ч) растворяли в 96% спирте в мерной

колбе емкостью 25 мл при нагревании на водяной бане. Полученный раствор охлаждали, довели объем раствора до метки 96% спиртом.

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1 мл раствора хлорида алюминия в 96% спирте, 2 мл раствора А и довели объем раствора 96% спиртом до метки. Спустя 30 мин измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре "Г-60 UV-VISIBLE SPECTROPHOTOMETER" при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 2 мл раствора А, 1 каплю разведенной уксусной кислоты и доведенный 96% спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора ГСО рутин, приготовленного аналогично испытываемому раствору.

На рис. 1 представлены спектры поглощения раствора комплекса рутин-хлористый алюминий (1), экстрактов листьев глухой крапивы (2) и барбариса (3) с хлористым алюминием. Видно, что во всех трех случаях появляются максимумы поглощения при длине волны 410 нм. Этот факт свидетельствует о содержании флавоноидов в исследуемых экстрактах.

Для определения содержания флавоноидов в исследуемых экстрактах прежде построили калибровочный график зависимости оптической плотности от количества комплекса рутин с  $AlCl_3$ . Измерение оптической плотности проводили при длине волны 410 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см. Результаты представлены на рис. 2, из которого видно, что калибровочный график зависимости оптической плотности (D) от количества рутина в спектрофотометрируемом растворе имеет вид прямой линии, проходящей через начало координат.

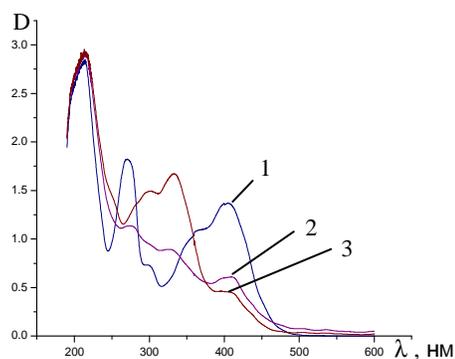


Рис. 1. Спектры поглощения комплексов хлорида алюминия с рутином (1) и спиртовых извлечений из листьев глухой крапивы (2) и барбариса (3).

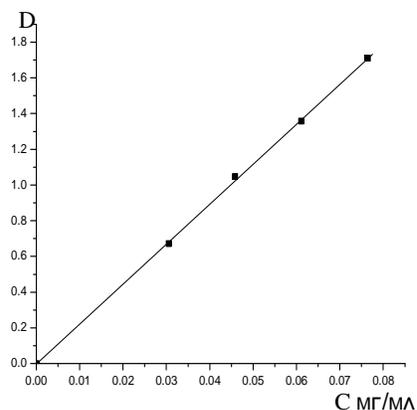


Рис. 2. Зависимость оптической плотности комплекса рутин —  $AlCl_3$  от концентрации рутина.  $\lambda = 410$  нм.

Учитывая, что комплексы флавоноидов с хлористым алюминием также дают поглощение при длине волны 410 нм, и пользуясь калибровочной прямой (рис. 2), определили содержание флавоноидов в листьях барбариса и глухой крапивы. Результаты приведены в таблице, из которой следует, что листья глухой крапивы содержат в среднем 3.23, а листья барбариса – 2.53 масс.% флавоноидов, т.е. в листьях глухой крапивы содержится в 1.28 раза больше флавоноидов, чем в листьях барбариса.

Таблица

Глухая крапива				Барбарис			
Масса экстракта, мг	Оптическая плотность при (410 нм)	Содержание флавоноидов, мг	Содержание флавоноидов, масс. %	Масса экстракта, мг	Оптическая плотность при (410 нм)	Содержание флавоноидов, мг	Содержание флавоноидов, масс. %
0.5155	0.41	0.017	3.30	0.42	0.26	0.0115	2.73
0.6186	0.46	0.020	3.18	0.63	0.36	0.0154	2.44
0.8248	0.63	0.027	3.25	0.84	0.49	0.0210	2.50
1.031	0.77	0.033	3.20	1.26	0.72	0.0310	2.45
<i>Среднее содержание</i>			3.23	<i>Среднее содержание</i>			2.53

В работе [2] методом поглощения кислорода нами были определены содержание антиоксидантных веществ в бензольных экстрактах листьев и плодов различных растений, в том числе глухой крапивы и барбариса. Было установлено, что в листьях барбариса содержание антиоксидантных веществ в 1.77 раза превышает содержание антиоксидантов по сравнению с экстрактом из листьев глухой крапивы. Обнаруженное противоречие можно объяснить высоким содержанием витамина С в листьях барбариса, соединение которого с  $AlCl_3$  не дает поглощение при длине волны 410 нм.

Таким образом, в работе спектрофотометрическим методом определено суммарное содержание флавоноидов в листьях глухой крапивы и барбариса. Установлено, что содержание флавоноидов в листьях глухой крапивы в 1.28 раза больше, чем в листьях барбариса.

**ՖԼԱՎՈՆՈՒՂՆԵՐԻ ՔԱՆԱԿԱԿԱՆ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ  
ԽՈՒՂ ԵՂԻՆՋԻ ԵՎ ԾՈՐԵՆՈՒ ՏԵՐԵՎՆԵՐՈՒՄ**

**Լ. Վ. ԱԹԱԲԵԿՅԱՆ**

Խուլ եղինջի և ծորենու տերևներից ստացված սպիրտային թուրմերում ապացուցված է ֆլավոնոիդների առկայությունը որակական և քանակական եղանակներով: Սպեկտրալ անալիզի եղանակով ցույց է տրված, որ ֆլավոնոիդների պարունակությունը նշված թուրմերում ըստ զանգվածի համապատասխանաբար կազմում է 3.23 և 2.53 մասս. %:

**THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE CONTENT  
OF FLAVONOIDS IN DEAF NETTLE (LAMIAM ALBUM L.)  
AND BARBERRY (BERBERUS L.) LEAVES**

**L. V. ATABEKYAN**

Goris State University  
4, Avantgarde Str., Goris, 3205, Armenia  
Fax: (374 284) 23603, E – mail: lilit\_a@mail.ru

This study states the quantitative and qualitative determination of flavonoids in the spirit extracts from deaf nettle and barberry leaves.

Total quantity of flavonoids was determined by spectrophotometric method using complex-forming reaction with aluminum chloride. Data were taken in the UV-region at the wavelength of 410nm. At the same time we have measured the optical density of the routine – aluminum chloride complex compound.

The method of spectral analysis revealed that the total content of flavonoids in the mentioned extracts are 3.23 and 2.53 mass.% accordingly.

**ЛИТЕРАТУРА**

- [1] *Vardanyan R.L., Vardanyan L.R., Atabekyan L.V., Beyleryan N.M., Baghdasaryan E.Gr.* // Monomers, Oligomers, Polimers, Composites, 2010, p. 457.
- [2] *Варданян Р.Л., Варданян Л.Р., Атабекян Л.В., Багдасарян Е.Г.* // Труды XII Всероссийской научной конференции по химии органических и элементарноорганических продуктов. Пероксиды. Уфа, 2009, с. 13.
- [3] *Сизова Н.В., Веретинова Н.Ю., Ефремов А.А.* // Химия растительного сырья, 2002, №3, с. 57.
- [4] *Федорова Т.Е., Иванова С.З., Бабкин В.А.* // Химия растительного сырья, 2009, №4, с. 5.
- [5] *Химический анализ лекарственных растений / под ред. Н.И.Гринкевича, Л.Н.Сафро-нича. М., Высшая школа, 1983, с. 176.*
- [6] *Марьян А.А., Калинкина Г.И.* // Химия растительного сырья, 2005, №1, с. 37.
- [7] *Лобанова А.А., Будаева В.В., Сакович Г.В.* // Химия растительного сырья, 2004, №1, с. 47.