

УДК 541. 127

Химия

**СУММАРНОЕ СОЕДИНЕНИЕ ФЕНОЛОВ И ФЛАВОНОИДОВ В
ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЯХ ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В
АРМЕНИИ И БЕЛАРУСИ**

*А. Шутова, С. Айрапетян, Л. Варданян,
Р. Варданян, В. Агабеков*

Известно [1-3], что лекарственные растения накапливают в достаточном количестве антиоксидантные вещества с целью защиты от внешних воздействии (ультрафиолетовые лучи, атмосферный кислород, радиационное излучение, температура и т.д.). К этим антиоксидантам относятся витамины А, Е, С, фенольные соединения, флавоноиды и т.д. [4].

Как химический состав, так и количественное содержание различных компонентов растения во многом зависят от условий его произрастания, в том числе, от совокупности климатических, эдафических, орографических факторов [5]. В условиях высокогорья растения оказываются под воздействием специфических факторов среды: повышенный фон ультрафиолетовой радиации и освещенности, пониженная температура и ее резкие колебания в течение суток, низкое атмосферное давление и концентрация углекислого газа и кислорода, а также характерная для некоторых регионов высокая влажность [6]. Совокупность абиотических факторов является предпосылкой для структурных и физиолого-биохимических приспособительных реакций растений, выражающихся в том числе в повышенном биосинтезе веществ, участвующих в обеспечении оптимального функционирования защитной системы растения.

Целью данной работы является определение суммарного содержания фенолов и флавоноидов в экстрактах растений, произрастающих в Горисском регионе Республики Армении (ГРА) и в центральной агроклиматической зоне Беларуси (агробиостанция 'Зеленое', Минский район), существенно отличающихся по совокупности климатических и орографических факторов.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования были выбраны растения различных семейств, широко распространенные как в Армении, так и в Беларуси. Образцы растений были собраны в 2012 году в ГРА (высота над уровнем моря -1370м, тимьян плзучий-1700м н.у.м.) и в Беларуси-220м н.у.м. Образцы собранных растений высушивали при температуре 40⁰С до постоянного веса и растирали в керамической ступке до порошкообразного состояния (размер частиц ≤1мм). Из полученного порошка экстракцию проводили в соответствии с методом, определенным Государственной Фармакопеей РБ [7, с.242]. 1г растительного сырья (порошка) поместили в коническую колбу, заливали 20мл 80% этанола. Затем колбу соединили с обратным холодильником, нагрели до кипения и поддерживали слабое кипение в течение 30 мин. После охлаждения жидкость

отфильтровали в 100мл мерную колбу, стараясь не переносить растительную массу на фильтр. На остаток растительной массы залили 20мл 80% этанола и повторили экстракцию еще два раза. Экстракты объединили, добавили этанол до 100мл метки и использовали для определения содержания экстрактивных веществ, фенольных соединений и флавоноидов.

Результаты и их обсуждение. Для определения содержания экстрактивных веществ в экстрактах известный объем (20мл) экстракта поместили во взвешенный бюкс. Растворитель выпаривали на водяной бане и сушили 3 часа при $102,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$, затем охлаждали в эксикаторе (над концентрированной серной кислотой) 30 мин и взвешивали на аналитических весах. Степень экстракций ($\omega, \%$) экстрактивных веществ из лекарственных растений вычислили по формуле

$$\omega = \frac{m_1 \cdot 100 \cdot 100}{m_2 \cdot V}$$

где, m_1 — масса экстрактивных веществ в измеряемом объеме (V) фильтрата растительного сырья, m_2 — масса сухого растительного сырья. Полученные результаты для исследованных лекарственных растений приведены в таблицы. Из этих данных следует, что 80% этанолом наибольшее количество экстрактивных веществ экстрагируется из листьев полыни горькой.

В экстрактивных веществах лекарственных растений особый интерес представляют соединения фенольного происхождения, как активных антиоксидантов. С этой целью в полученных экстрактивных веществах были определены суммарные содержания фенольных соединений и флавоноидов.

Суммарное содержание фенольных соединений в сухом веществе экстрактов определяли с использованием модифицированного метода Фолина–Чокальтеу [8,9]. Реактив Фолина–Чокальтеу состоит из смеси $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ и $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$, которая восстанавливается при окислении фенолов до W_8O_{24} и Mo_8O_{24} окрашивая водный раствор голубого цвета с максимум поглощения при $\lambda = 725\text{--}730 \text{ нм}$.

Для определения общего содержания фенольных соединений в экстрактах 0.5 мл образца, 1мл реактива Фолина–Чокальтеу и 10мл раствора Na_2CO_3 поместили в мерную колбу объемом 50мл, дистиллированной водой объем раствора довели до метки и взбалтывали. Через 30 мин измерили поглощение на спектрофотометре Agilent 8453 в кювете с рабочей длиной 10 мм. В качестве контроля служила дистиллированная вода с добавлением всех выше указанных реактивов. Для калибровки использовали галловую кислоту в диапазоне концентраций 0,05–0,75 г/л. Калибровочная прямая и ее параметры приведены на рисунке (прямая 2).

Обнаруженные суммарные содержания фенольных соединений для исследованных экстрактов приведены в таблице. Из таблицы следует, что из исследованных лекарственных растений наибольшее количество фенольных

соединении содержатся в экстракте из листьев земляники, произрастающей в ГРА.

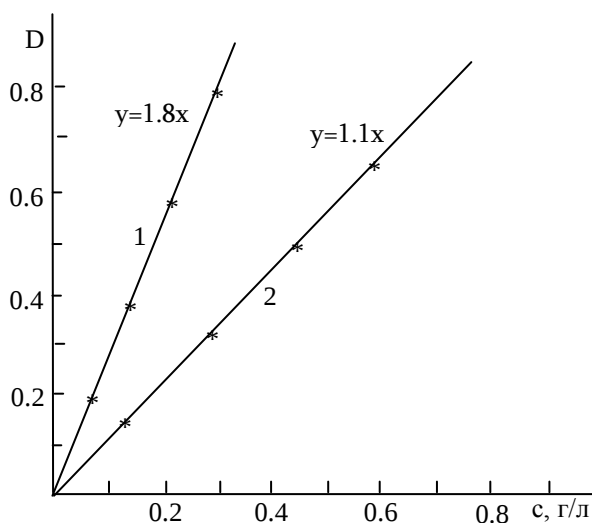


Рис. Калибровочные прямые для определения содержания 1) флавоноидов (в пересчете на рутин) и 2) фенольных соединений (в пересчете на галловую кислоту).

Суммарное содержание флавоноидов определяли по методике описанной в работе [10]. С этой целью 2мл анализируемого раствора (этанольного экстракта) поместили в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавили 1мл 10% этанольного раствора хлорида алюминия и довели до метки 96% спиртом. Через 30 мин измерили оптическую плотность раствора на спектрофотометре Agilent 8453 при длине волны 410 нм в кювете с рабочей длиной 10мм. В качестве раствора сравнения использовали смесь: 2 мл исследуемого образца, 0,1мл ледяной уксусной кислоты и 23,9мл 96% этанола. Для построения калибровочной прямой применили этанольный раствор рутина в диапазоне концентраций 0,01 – 0,54 г/л. Калибровочная прямая для расчета содержания флавоноидов по рутину и ее параметры приведены на рисунке (прямая 1).

Результаты по измерению суммарного содержания флавоноидов в исследованных экстрактах приведены в таблице, откуда следует, что наибольшее количество флавоноидов содержится в экстракте из листьев земляники обыкновенной, а наименьшее количество в экстракте из цветков клевера лугового.

Таблица Степень экстракции экстрактивных веществ и содержание в них фенольных соединений и флавоноидов некоторых лекарственных растений Армении и Белоруси

Название растения	Орган растения	Место произрастания	Время сбора сырья (число, месяц)	Степень экстракции экстрактивных веществ, %	Содержание (вес.%) в высушенном растительном сырье	
					Фенольных соединений	Флавоноидов
Душица обыкновенная/ Origanum vulgare L.	цветки	Армния	15.05	13,68±0,81	3,60±0,32	2,52±0,55
Земляника обыкновенная/ Fragaria vesca L.	листья	Беларусь	02.10	7,52±0,50	5,55±0,31	3,98±0,12
		Армния	02.12	40,20±0,95	7,81±0,45	4,58±0,31
Пижма обыкновенная/ Tanacetum vulgare L.	цветки	Беларусь	02.10	12,49±1,20	2,68±0,09	1,32±0,06
Полынь горькая/ Artemisia Absinthium L.	цветки	Беларусь	02.10	42,56±2,01	1,70±0,56	1,65±0,04
Полынь обыкновенная/ Artemisia vulgaris	листья	Беларусь	02.10	20,64±0,52	2,54±0,66	1,02±0,08
		Армния	05.06	21,68±1,50	3,65±0,42	1,47±0,12
Клевер луговой/ Trifolium pratense	листья	Беларусь	02.10	18,91±1,12	1,85±0,92	1,30±0,06
		Армния	18.09	22,50±2,20	2,15±0,44	1,51±0,15
	цветки	Армния	18.09	15,45±0,85	1,15±0,32	0,80±0,10
Одуванчик лекарственный Taraxacum officinale	листья	Беларусь	02.10	21,51±0,21	3,54±0,76	1,05±0,03
		Армния	02.05	23,68±0,70	2,25± 0,05	1,65±0,10
	цветки	Армния	02.05	20,32±0,45	3,32±0,60	1,10±0,15

Хвош полевой/ Equisetum arvense	листья	Беларусь	02.10	10,73±1,00	0,89±0,06	0,94±0,05
Циокорий обыкновенный/ Cichorium intybus	цветки	Беларусь	02.10	15,40±0,55	1,25±0,56	0,58±0,03
		Армения	15.06	16,65±0,95	4,45±0,65	2,25±0,75
Тимьян ползучий/ Thymus serpyllum	трава	Армения	25.08	16,57±0,90	2,27±0,22	0,87±0,13

**Во всех случаях (кроме листьев земляники) сбор осуществляли в фазе цветения растения.*

Таким образом, экстракты исследованных лекарственных растений содержат достаточное количество антиоксидантных веществ (от 0,87 до 5,5 вес.%) и могут быть использованы в медицине для лечения онкологических и сердечнососудистых заболеваний, а также как стабилизаторы против старения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Армянского фонда фундаментальных исследований, Министерства образования и науки РА (проект N 11 РБ-019).

Լիտերատուրա

1. Joy R. Borchardt, Donald L. Wyse, Craig C. Sheaffer, Kendra L. Kauppi, R. Gary Fulcher, Nancy J. Ehlke, David D. Biesboer and Russell F. Bey. Antioxidant and antimicrobial activity of seed from plants of the Mississippi river basin. J. Med. Plant.Res.2009, vol. 3 (10), p. 707-718.
2. Краснов Е.А., Ефремов А.А., Кадырова Т.В., Каминский И.П. Компонентный состав эфирного масла василька шероховатого. Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. Материалы V Всероссийской конференции. 2012, с. 210-212
3. Израильсон В.Ф., К интродукции представителей *Vupleurum aureum* L. Перспективные полезные растения флоры Сибири. Новосибирск: Наука, Сиб. Отд-ние, 1973. 92-100.
4. Яшин Я.И., Рыжнёв В.Ю., Яшин А.Я., Черноусова Н.И. Природные антиоксиданты – надежная защита человека от опасных болезней и старения. М., 2008. С. 122.
5. Дмитриева Г.Ю. Влияние экологических факторов на содержание в растениях некоторых антиоксидантов. Автореферат дис.канд. биол. наук. Калининград, 2009, 25с.
6. Чхубианашвили Е.И., Чанишвили Ш.Ш., Кочарова Н.Ф., Бадригзе Г.Ш. Физиология и биохимия культурных растений. 2009, Т.41, N2, с. 132-139.

7. Государственная Фармакопея РБ: Общие методы контроля качества лекарственных средств. Центр экспертизы и испытаний в здравоохранении; под общ. ред. Годовальникова Г.В.–Минск: Минский государственный ПТК полиграфии, 2006. – 650 с.
8. Wang M. et al. **Analysis of Antioxidative Phenolic Compounds in Artichoke (*Cynara scolymus* L.)**, Agric J. Food Chem. 2003. Vol. 51. P. 601–603.
9. Ikawa M. et al. **Utilization of Folin–Ciocalteu Phenol Reagent for the Detection of Certain Nitrogen Compounds**, J. Agric. Food Chem. 2003. Vol. 51. P. 1811–1813.
10. Косман В.М., Зенкевич И.Г., Количественное экстракционно-спектрофотометрическое определение суммарного содержания гидроксикоричных кислот в присутствии флавоноидов в экстрактивных веществах некоторых лекарственных растений. Растительные ресурсы. 2001. Т. 37, вып.4. С. 123–129.

**Հայաստանում և Բելոռուսում աճող մի շարք դեղաբույսերում
ֆենոլների և ֆլավոնոիդների գումարային որոշումը**
Ա. Շուտովա, Ս. Հայրապետյան, Լ. Վարդանյան,
Ռ. Վարդանյան, Վ. Ագաբեկով

Ամփոփում

Ուսումնասիրվել են Հայաստանի Գորիսի տարածաշրջանում և Բելառուսի Կենտրոնական բուսաբանական այգում աճող դեղաբույսերի էթանոլային էքստրակցիան: Որոշվել է էքստրակցիայի աստիճանը, էքստրակտում պարունակվող ֆենոլների և ֆլավոնոիդների քանակական պարունակությունը: Ցույց է տրված, որ համեմատաբար մեծ քանակությամբ հակաօքսիդիչ նյութեր (ֆենոլներ ու ֆլավոնոիդներ) պարունակվում են Հայաստանի հանրապետության Գորիսի տարածաշրջանում աճող ազնվամորու տերևներում:

Total Compound of Phenols and Flavonoids in Herbs
Growing in Armenia and Belarus
A. Shutova, S. Ayrapetyan, L. Vardanyan, R. Vardanyan, V. Agabekov

Summary

The ethanolic extraction of medical herbs growing in Goris region of Armenia and in the Central Botanic Garden of Belarus was investigated. The level of extraction was determined as well as a quantitative analysis of phenols and flavonoids was carried out. It was demonstrated that a relatively large amount of antioxidants (e.g. phenols and flavonoids) is contained in leaves of strawberry growing in Goris region of Armenia.