

Н. С. Фурса<sup>1</sup>, М. Е. Жаворонкова<sup>1</sup>,  
Г. Н. Бузук<sup>2</sup>, М. С. Коротаева<sup>1</sup>

## ХРОМАТОСПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АРБУТИНА В ЛИСТЬЯХ ДЕВЯТИ ВИДОВ РОДА РОДОДЕНДРОН

<sup>1</sup>Ярославская государственная медицинская академия

<sup>2</sup>Витебский государственный медицинский университет

*В статье представлены данные о количественном содержании арбутина в листьях 9 видов рода рододендрон. Наиболее высокое содержание арбутина определено в листьях рододендрона даурского и р. Адамса, а наименьшее – в листьях р. Фори, р. понтийского и р. желтого.*

### ВВЕДЕНИЕ

Растения рода рододендрон (*Rhododendron* L.) семейства вересковые (*Ericaceae* Juss.) находят применение в традиционной медицине и гомеопатии. В качестве лекарственного сырья используют листья, у отдельных видов используют также цветки [1].

Среди действующих веществ важное место занимают фенольные соединения, в том числе арбутин, обуславливающий мочегонное и антисептическое действие.

Традиционно количественное определение арбутина производят методикой, в основу которой положено йодометрическое титрование [3]. Вместе с тем она громоздка и длительна.

Одной из наиболее объективных методик для количественного определения арбутина в фитосырье представляется хроматоспектрофотометрия [2, 4]. В ее основе лежит измерение оптической плотности извлечения из лекарственного растительного сырья в УФ-области после очистки извлечения от сопутствующих веществ.

*Цель исследования – сравнительный количественный анализ листьев 9 видов рода рододендрон по содержанию арбутина.*

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования служили листья 9 видов рода рододендрон (р. Адамса – *R. adamsii* Rehd., р. золотистого – *R. aureum* Georgi, р. даурского – *R. dauricum* L., р. желтого – *R. luteum* Sweet, р. кавказского – *R. caucasicum* Pall., р. понтийского – *R. ponticum* L., р. Симса – *R. simsii* Planch., р. Смирнова – *R. smirnovii* Trautv., р. Фори – *R. fauriei* Franch. var. *brachycarpum*), собранные в местах естественного произрастания и в условиях интродукции в ботанических садах. Количественное определение арбутина в них нами проведено по хроматоспектрофотометрической методике [2], адаптированной применительно к объектам исследования.

Для определения условий максимального извлечения арбутина нами использованы листья рододендрона желтого (*Rhododendron luteum* Sweet), заготовленные в Главном ботаническом саду РАН (г. Москва) 5 сентября 2006 г.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из сравнения спектральных характеристик 70% этанольного извлечения из листьев рододендронов и арбутина-стандарта (фирма «Sigma», США) следует, что арбутин – основной фенологликозид исследуемого сырья.

При разработке методики количественного определения арбутина вначале выявили оптимальные условия экстрагирования арбутина.

Так, наибольший выход арбутина наблюдался при экстракции 70% спиртом этиловым (таблица 1). При исследовании влияния на выход арбутина продолжительности и кратности экстрагирования, а также объема экстрагента, взятого для отдельной экстракции, обнаружено, что больше всего арбутина извлекалось при двукратной экстракции 30 мл 70% этанола продолжительностью 30 мин (таблица 2).

Таблица 1 – Влияние концентрации этилового спирта на выход арбутина из сырья

Концентрация спирта этилового, %	X, %
40	1,30
50	0,74
70	<b>1,37</b>
90	1,26
96	0,54

Таблица 2 – Определение оптимальных условий экстракции

Количество экстракций	Время одной экстракции, мин	Объем экстрагента, мл	X, %
2	15	30	0,98
3	15	20	0,82
1	30	60	0,92
2	30	30	<b>1,01</b>
3	30	20	0,90

Кроме того, нами определен выход арбутина из сырья различной степени измельченности. Полнее всего он экстраги-

ровался из сырья с размером частиц до 1 мм (таблица 3).

Таблица 3 – Зависимость выхода арбутина от степени измельчения сырья

Размер частиц сырья, мм	X, %
Цельное сырье	1,78
5	1,73
3	1,73
2	1,85
1	<b>2,12</b>

С учетом изложенных данных нами проведено количественное определение арбутина в листьях 9 видов рода рододендрон, заготовленных в различных регионах России (таблица 4), по приведенной ниже методике.

***Методика количественного определения арбутина в листьях рододендронов***

Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 30 мл 70% спирта этилового, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали при умеренном кипении на водяной бане в течение 30 мин. Извлечение

охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100,0 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. Операцию повторяли. Извлечение доводили до метки 70% этанолом. После этого 6 мл извлечения помещали в колонку с алюминия оксидом и элюировали 15 мл 70% спирта этилового. Элюат собирали в мерную колбу вместимостью 25,0 мл, доводили объем до метки 70% этанолом и перемешивали.

Оптическую плотность данного раствора измеряли на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 285 нм в кювете с толщиной рабочего слоя 10 мм. Раствором сравнения служил 70% спирт этиловый,

пропущенный через колонку с алюминия оксидом. Подготовка хроматографической колонки: 2,0 г алюминия оксида нейтрального для хроматографии (L40/250) фирмы «Lachema» (Чехия), промытого водой, очищенной до нейтральной реакции, помещали в стеклянную колонку диаметром 1,5 см и высотой 25 см и промывали 10 мл 70% этанола.

Содержание арбутина в сырье вычисляли по следующей формуле:

$$X(\%) = \frac{A \times 100 \times 25 \times K}{E_{1\text{см}}^{1\%} \times m \times a},$$

где  $A$  – оптическая плотность исследуемого раствора;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$  – удельный показатель поглощения арбутина-стандарта, равный 72,23 [4, 5];

$a$  – аликвота, мл;

$m$  – навеска сырья, г;

$K$  – коэффициент неполного элюирования, равный 1,14 [4, 5].

Метрологическая характеристика количественного определения арбутина по данной методике приведена в таблице 4.

Таблица 4 – Метрологическая характеристика количественного определения арбутина

$n$	$f$	$X$	$S^2$	$S$	$S_x$	$P, \%$	$t(p, f)$	$\Delta X$	$\varepsilon, \%$
8	7	1,75	0,0041	0,0639	0,0226	95	2,36	0,05	3,05

Ошибка количественного определения арбутина в среднем составила 3,05%.

Результаты количественного определения обобщены в таблице 5.

Таблица 5 – Содержание арбутина в листьях 9 видов рода рододендрон

Вид	Место сбора	Дата сбора	X, %
Р. даурский (R. dauricum L.)	г. Переславль-Залесский (Ярославская обл.), дендросад	30.09.2005 г.	12,80
Р. Адамса (R. adamsii Rehd.)	Окрестности г. Иркутска	Июль 2005 г.	12,21
Р. кавказский (R. caucasicum Pall.)	Карачаево-Черкесская республика, Даутское ущелье	26.07.2006 г.	5,72
Р. Золотистый (R. aureum Georgi)	Окрестности г. Иркутска	Июль 2005 г.	5,58
Р. Смирнова (R. smirnovii Trautv.)	г. Санкт-Петербург, ботанический сад БИН	Май 2006 г.	5,14
Р. Симса (R. simsii Planch.)	Комнатное растение	Январь 2006 г.	3,19
Р. Фори (R. fauriei Franch.) var. короткоплодный (R. brachycarpum)	г. Москва, ГБС РАН	05.09.2006 г.	2,75
Р. Понтийский (R. ponticum L.)	г. Санкт-Петербург, ботанический сад БИН	Май 2006 г.	2,66
Р. Желтый (R. luteum Sweet)	г. Москва, ГБС РАН	05.09.2006 г.	2,02

Примечание. Виды расположены в порядке убывания содержания арбутина

Из данных, приведенных в таблице 5, видно, что наиболее высокое содержание арбутина определено в листьях рододендрона даурского и р. Адамса, а наи-

меньшее – в листьях р. Фори, р. понтийского и р. желтого.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлены оптимальные условия экстрагирования арбутина, положенные в основу методики его хроматоспектрофотометрического определения в листьях 9 видов рода рододендрон.

Наиболее высокое содержание арбутина определено в листьях рододендрона даурского и р. Адамса, а наименьшее – в листьях р. Фори, р. понтийского и р. желтого.

## SUMMARY

N.S. Fursa, M.E. Zhavoronkova,  
G.N. Buzuk, M.S. Korotaeva  
ARBUTIN LEVELS IN THE LEAVES OF  
SEVERAL SPECIES OF THE GENUS  
RHODODENDRON

By the chromatospetrophotometric method the highest content of arbutin was determined in the leaves of *Rhododendron dauricum* and *R. adamsii* and the lowest one in the leaves of *R. fauriei* var. *brachycarpum*, *R. ponticum* and *R. luteum*.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Виды рода рододендрон – потенциальные лекарственные растения: особенности применения, биологически активные вещества органической природы, макро- и микроэлементы / М.Е. Жаворонкова [и др.]; Естественное и гуманизм: сб. науч. работ / Современный мир, природа и человек; под ред. Н. Н. Ильинских. – Томск, 2007. – Т. 4, № 1. – С. 40 – 44.
2. Хроматоспектрофотометрическое определение арбутина в листьях *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch / П.Б. Лубсандоржиева [и др.] // Хим. фарм. журн. – 2000. – № 5. – С. 38 – 40.
3. Государственная фармакопея СССР. XI изд. Вып. 2. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.
4. Онегин, С.В. Выявление объективной и разработка наиболее достоверной методики количественного определения арбутина в траве вереска обыкновенного / С.В. Онегин, Н.С. Фурса // Современные вопросы фармакогнозии: Межвуз. сб. науч. тр. с международ. участием, посвященный 20-

летию кафедры фармакогнозии / ЯГТУ; под ред. Н.С. Фурсы. – Ярославль, 2004. – С. 235 – 248.

5. Белоусов, М.В. Фармакогностическая характеристика и биологическая активность представителей семейства вересковые (Ericaceae) флоры Сибири и Дальнего Востока: автореф. ... дис. докт. фармац. наук / М.В. Белоусов; Томск, 2004. – 38 с.

Поступила 05.05.2009 г.

\*\*\*\*\*

Л.С. Мазенина<sup>1</sup>, Г.Н. Бузук<sup>2</sup>,  
В.Д. Белоногова<sup>3</sup>, Н.С. Фурса<sup>1</sup>

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ ТОЛОКНЯНКИ

<sup>1</sup>Ярославская государственная  
медицинская академия

<sup>2</sup>Витебский государственный  
медицинский университет

<sup>3</sup>Пермская государственная  
фармацевтическая академия

*В статье изложена методика количественного определения флавоноидов в листьях толокнянки обыкновенной. С ее использованием определено содержание этих веществ в листьях растения, заготовленных в окрестностях г. Ярославля, а также различных производителей.*

## ВВЕДЕНИЕ

Толокнянка обыкновенная (*Agrostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.) семейства вересковые (Ericaceae Juss.) – стелющийся, вечнозеленый кустарничек, произрастающий практически во всех районах европейской и азиатской частей России, а также в Западной Европе и Северной Америке. Официальное сырье толокнянки (листья) является диуретическим, антисептическим, дезинфицирующим и вяжущим средством.

Кроме того, оно обладает рядом других свойств [1–3].

Листья растения содержат значительное количество фенольных соединений, одной из групп которых являются флавоноиды. Методика количественного определения в данном сырье флавоноидов нами не обнаружена.

Целью настоящего исследования стала разработка оптимальной методики количественного определения суммы этих веществ в листьях толокнянки.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали листья толокнянки обыкновенной, собранные в июне – сентябре 2005 – 2007 г. в окрестностях г. Ярославля, а также официальное сырьё, реализуемое различными производителями. Компонентный состав флавоноидов листьев изучали с использованием восходящей двумерной хроматографии на бумаге (FN-6) в системах растворителей: I-ое направление –

БУВ (4:1:2); II-ое направление – 15%-ный раствор уксусной кислоты.

Для количественного анализа флавоноидов нами использована дифференциальная спектрофотометрия, основанная на измерении оптической плотности комплекса этих соединений с алюминия хлоридом. Сравнение испытуемого раствора без добавления реактивов позволяет исключить влияние окрашенных и других сопутствующих веществ. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, как преобладающий компонент, рассчитывали с использованием удельного показателя поглощения ( $E_{1cm}^{1\%}$ ) комплекса гиперозида-стандарта с алюминия хлоридом, равного 291,09 [4].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Двумерной хроматографией на бумаге этанольного извлечения из листьев толокнянки в соотношении 1:10 мы обнаружили более 10 флавоноидных соединений, что отражено в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты хроматографического анализа флавоноидов листьев толокнянки обыкновенной

№ пятна	Значения R <sub>f</sub> в системах		Окраска в УФ-свете	
	I	II	до проявления	после проявления 2% раствором ZrOCl <sub>2</sub> , парами NH <sub>4</sub> OH
1	0,15	0,53	желто-коричневая	коричневая
2	0,18	0,15	голубая	голубая
3	0,23	0,11	желтая	желто-коричневая
4	0,26	0,64	сиреневая	ярко-сиреневая
5	0,36	0,03	желтая	желто-оранжевая
6	0,40	0,15	желтая	желтая
7	0,38	0,82	коричневая	коричневая
<b>8</b>	<b>0,43</b>	<b>0,45</b>	<b>коричневая</b>	<b>желто-оранжевая</b>
9	0,44	0,56	желтая	желтая
10	0,52	0,31	желтая	ярко-желтая
11	0,51	0,03	светло-желтая	желтая
12	0,52	0,59	желтая	желтая
13	0,56	0,39	светло-желтая	желтая
14	0,67	0,73	коричневая	коричневая
15	0,72	-	желто-коричневая	коричневая

Условные обозначения: I – н-бутанол - уксусная кислота - вода (4:1:2); II – 15% уксусная кислота.

В результате дальнейших исследований нами выявлены оптимальные условия количественного определения суммы флавоноидов в листьях толокнянки, в частности, экстрагент – 50 % этиловый спирт, размер частиц – 1 мм, режим экс-

тракции – нагревание в колбе с обратным холодильником на кипящей водяной бане 3 раза по 15 минут. Соотношение сырья и экстрагента, при котором происходит наибольший выход флавоноидов, составило 1:100 (таблицы 2 – 5).

Таблица 2 – Результаты выявления оптимального экстрагента

Экстрагент	Содержание флавоноидов, %
20% этанол	0,984±0,015
40% этанол	1,140±0,017
50% этанол	<b>1,862±0,028</b>
70% этанол	1,629±0,025
90% этанол	0,743±0,011
96% этанол	0,691±0,011

Таблица 3 – Выход флавоноидов в зависимости от степени измельченности сырья

Степень измельченности	Содержание флавоноидов, %
5 мм	1,012±0,015
3 мм	1,197±0,018
2 мм	1,507±0,023
1 мм	<b>1,835±0,028</b>
Менее 1мм	1,215±0,019

Таблица 4 – Выбор оптимального режима экстрагирования

Количество экстракций	Время одной экстракции, мин.	Содержание флавоноидов, %
1	15	0,894±0,014
2	15	1,490±0,023
3	15	<b>1,851±0,028</b>
1	30	0,915±0,014
2	30	1,234±0,019
3	30	1,359±0,021

Таблица 5 – Содержание флавоноидов в зависимости от соотношения сырья и экстрагента

Соотношение	Содержание флавоноидов, %
1:10	1,704±0,026
1:20	1,773±0,027
1:30	1,837±0,028
1:50	1,879±0,029
1:100	<b>1,973±0,030</b>

Исходя из приведенных данных, количественное определение суммы флавоноидов в листьях толокнянки обычно-

венной проводили по следующей методике: 1,0 г (точная навеска) сырья, проходящего через сито диаметром 1 мм, заливали

20 мл 50% спирта этилового и нагревали в колбе с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 15 минут. Вытяжку охлаждали и фильтровали в мерную колбу вместимостью 100 мл.

Экстракцию повторяли еще 2 раза, фильтруя в ту же колбу, и после охлаждения доводили объем извлечения 50% спиртом этиловым до метки. 3 мл извлечения вносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 10 мл 96% этанола, 0,5 мл 33% раствора кислоты уксусной, 1,5 мл 10% раствора алюминия хлорида, 2 мл 5% раствора гексаметилентетрамина, доводили объем раствора водой до метки и тщательно перемешивали. В качестве раствора сравнения использовали раствор, содержащий 3 мл извлечения, 10 мл 96% этанола, 0,5 мл 33% раствора кислоты уксусной и воды до 25 мл.

Через 40 минут определяли оптическую плотность раствора на спектрофотометре СФ - 46 при длине волны 407 нм в кювете с длиной рабочего слоя 1 см.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид-стандарт вычисляли по формуле:

$$X, \% = \frac{D_x \times 25 \times 100}{E_{1cm}^{1\%} \times a \times b},$$

где X,% - количественное содержание суммы флавоноидов, %;

$D_x$  - оптическая плотность исследуемого раствора;

100 - объем мерной колбы, используемой для сбора извлечения, мл;

25 - объем мерной колбы, используемой для разведения и анализа, мл;

$E_{1cm}^{1\%}$  - удельный показатель поглощения комплекса гиперозида с алюминия хлоридом, равный 291,09;

a - навеска сырья, г;

b - аликвота извлечения, мл.

Метрологическая характеристика предложенной нами методики количественного определения суммы флавоноидов отражена в таблице 6.

Таблица 6 – Метрологическая характеристика количественного определения флавоноидов

n	f	X	S <sup>2</sup>	S	S <sub>x</sub>	P,%	t (p,f)	ΔX	ε,%
10	9	1,827	0,0015	0,0387	0,0122	95	2,26	0,028	1,53

Ошибка количественного определения суммы флавоноидов в среднем составила 1,53%. С помощью приведенной выше методики нами проанализированы образцы сырья толокнянки, заготовленные в

2005-2007 годах, и несколько упаковок, реализуемых аптеками. Содержание флавоноидов в исследованных образцах находилось в пределах 1,206 – 1,851 %. Результаты обобщены в таблице 7.

Таблица 7 – Содержание флавоноидов в различных образцах сырья толокнянки

Образец		Содержание флавоноидов, %
№ п/п	Сырьё из естественных мест произрастания	
1	Пос. Вакарево Ярославского р-на Ярославской обл., август 2005 г.	1,212±0,018
2	Пос. Прусово Ярославского р-на Ярославской обл., июнь 2006 г.	1,843±0,028
3	Окр.г. Ярославль, август 2006 г.	1,851±0,028
4	Пос. Прусово Ярославского р-на Ярославской обл., август 2006 г.	1,715±0,026
5	Пос. Вакарево Ярославского р-на Ярославской обл., сент. 2006 г.	1,503±0,023
6	Пос. Вакарево Ярославского р-на Ярославской обл., август 2007 г.	1,833±0,028
Сырьё различных производителей		
7	ООО «ФАРОС», серия 12072003	1,206±0,018
8	ОАО «Красногорсклексредства», серия 10104	1,315±0,020
9	ЗАО «Здоровье», серия 041005	1,460±0,022
10	АО «Адонис», серия 50203	1,515±0,023

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами подобраны оптимальные условия для количественного анализа и предложена методика, с помощью которой определено содержание флавоноидов в листьях толокнянки, собранных в местах естественного произрастания и реализуемых в аптеках. Содержание флавоноидов в исследованных образцах варьировало от 1,206 до 1,851 %.

## SUMMARY

L.S. Mazepina, G.N. Buzuk,  
V.D. Belonogova, N.S. Fursa,  
QUANTITATIVE DETERMINATION  
OF FLAVONOIDS' AMMOUNT  
IN BEARBERRY LEAVES

The technique of quantitative analysis of flavonoids in bearberry leaves is proposed in the article. By means of this technique amounts of flavonoids were determined in samples, gathered in outskirts of Yaroslavl and bought at the chemist's shop.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Буданцев, А.Л. Дикорастущие полезные растения России / А.Л. Буданцев, Е.Е. Левиовская; под ред. А.Л. Буданцева. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.
2. Лесные травянистые растения. Биология и охрана: справочник / Ю.Е. Алексеев [и др.]. – М.: Агропромиздат, 1988. – 223 с.
3. Соколов, П.Д. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Раеониaceae – Thymelaeaceae / П.Д. Соколов. – Л.: Наука, Ленингр. отд-е, 1986. – 336 с.
4. Коротаяева, М.С. Фармакогностическое изучение четырех видов рода *Ledum* L.: автореф. дис. ... канд. фарм. наук / М.С. Коротаяева; – Пермь, 2006. – 23 с.

*Поступила 08.05.2009 г.*

\*\*\*\*\*