

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ, ФАРМАКОГНОЗИЯ / PHARMACEUTICAL CHEMISTRY,
PHARMACOGNOSY

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.39>

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ БУКВИЦЫ МЕТОДОМ
СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Научная статья

Курдюков Е.Е.^{1,*}, Финаёнова Н.В.², Фриндак К.А.³, Селезнева Ю.А.⁴

¹ORCID : 0000-0001-9512-6770;

^{1,2,3,4} Пензенский государственный университет, Пенза, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (e.e.kurdyukov[at]mail.ru)

Аннотация

Целью данной работы явилось количественное изучение флавоноидных соединений травы буквицы. Объектом для исследования служила трава буквицы, собранная на территории Пензенской области. Растительный материал был высушен воздушно-теньевым способом. Проведено количественное определение суммы флавоноидов в траве буквицы методом дифференциальной спектрофотометрии. Методом дифференциальной спектрофотометрии в экстрактах из травы буквицы подтверждено наличие флавоноидов, определены аналитические максимумы исследуемых соединений 395±2 нм. Обоснованы оптимальные условия экстракции флавоноидов из сырья данного растения (экстрагент – спирт этиловый 70%; соотношение «сырье – экстрагент» – 1:200; время экстракции – 90 минут; степень измельченности сырья – 1,0 мм).

Ключевые слова: флавоноиды, буквица, спектрофотометрия, количественное определение, лuteолин-7-глюкозид.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE SUM OF FLAVONOIDS IN BETONICA HERB BY
SPECTROPHOTOMETRY

Research article

Kurdyukov Y.Y.^{1,*}, Finayonova N.V.², Frindak K.A.³, Selezneva Y.A.⁴

¹ORCID : 0000-0001-9512-6770;

^{1,2,3,4} Penza State University, Penza, Russian Federation

* Corresponding author (e.e.kurdyukov[at]mail.ru)

Abstract

The aim of this work was the quantitative study of flavonoid compounds of the herb *Betonica*. The object of the study was the *Betonica* herb collected in Penza Oblast. The plant material was air-shade dried. Quantitative determination of the sum of flavonoids in the herb of by differential spectrophotometry method was carried out. The differential spectrophotometry method confirmed the presence of flavonoids in the extracts from the *Betonica* herb, the analytical maxima of the studied compounds were determined at 395±2 nm. The optimal conditions of extraction of flavonoids from raw materials of this plant (extractant – ethyl alcohol 70%; ratio "raw material – extractant" – 1:200; extraction time – 90 minutes; degree of crushing of raw materials – 1.0 mm) were substantiated.

Keywords: flavonoids, *Betonica*, spectrophotometry, quantification, luteolin-7-glucoside.

Введение

Буквица лекарственная (*Betonica officinalis*, сем. Яснотковые – *Lamiaceae*) является многолетним травянистым растением, родиной которого считается Европа и Западная Азия. Это растение принадлежит семейству губоцветных (лат. *Lamiaceae*). Буквица лекарственная относится к корневищным видам, образующим надземные образования, такие как розетки листьев и прямостоячие и цветущие стебли с противоположно расположенными продолговатыми, бесчерешковыми, стеблевидными листьями. Стебли достигают высоты от 30 до 80 см и покрыты короткими мягкими волосками. Листья буквицы лекарственной продолговато-яйцевидной формы и с сердцевидными наружными краями. Они располагаются напротив друг друга, имеют короткое черешковое соединение и обладают зубчатым краем. Цвет листьев ярко-зеленый. Цветки буквицы лекарственной собраны в густые колосовидные соцветия длиной до 15 см. Они имеют розово-фиолетовую окраску и обладают приятным запахом. Каждый цветок состоит из верхней двугубой губообразной доли (верхней губки) и нижней трехгубой губообразной доли (нижней губки). Внутри цветка находятся 4 темно-коричневые тычинки. Верхняя губка цветка имеет крупную металлически блестящую военную колючку, которая позволяет насекомым легко входить в цветок для опыления. Плодом буквицы лекарственной является тетраэдральный орешек коричневого цвета, содержащий четыре семенных зерна. Размер плода составляет около 2 мм. В медицине используются верхушки цветущих побегов буквицы лекарственной, которые собирают в период цветения – с июня по август [3].

Буквица лекарственная является малоизученным растением. По литературным данным сырье буквицы обладает широким спектром фармакологической активности, используется как укрепляющее и улучшающее обмен веществ, при повышенной кислотности желудочного сока, воспалительных заболеваниях печени, желтухе, водянке, воспалении почек и мочевого пузыря, при лечении ревматизма, подагры, артритов [1], [2], [3].

Проблема стандартизация растительного сырья на основе буквицы является достаточно актуальной. Трава буквицы содержат флавоноиды, фенилпропаноиды, сапонины, органические кислоты [1], [2], [3]. Однако отсутствуют

методики количественного определения интересных для фармацевтики групп биологически активных соединений (БАС), в том числе флавоноидов. Для идентификации и количественного определения флавоноидов в лекарственных растениях часто используют спектрофотометрические методы [4], [5], [6]. Они просты, быстры, удобны и не требуют сложного оборудования.

Методы и принципы исследования

В качестве объекта исследования использовалась высушенная трава буквицы лекарственной, заготовленная в июле 2024 г. в ботаническом саду Пензенского государственного университета. Извлечение флавоноидов из травы буквицы осуществляли путем однократной экстракции этанолом (95%, 70%, 40%) при нагревании на кипящей водяной бане в течение 90 мин.

Например, 1,0 г измельченного сырья помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл с притертой пробкой и прибавляют 200 мл спирта этилового и взвешивали с погрешностью $\pm 0,01$ г. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане в течение 90 мин при перемешивании. Извлечение охлаждали до комнатной температуры, взвешивали и при необходимости доводили до первоначальной массы спиртом, концентрация которого соответствовала используемой для экстракции. Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр в колбу темного стекла, отбрасывая при этом первые 10 мл экстракта (раствор А).

Измерения оптической плотности проводили на спектрофотометре СФ-103 в кварцевых кюветках (10 мм). Спектры собственного поглощения флавоноидов травы буквицы регистрировали в интервале длин волн 250-500 нм. Для количественного определения флавоноидов в извлечениях из травы буквицы применяли метод дифференциальной спектрофотометрии [4], [6].

Полученный продукт фильтровали через бумажный фильтр и отбрасывали первые 10 мл экстракта (раствор А). В две мерные колбы (25 мл) помещали по 2 мл раствора А. В первую добавляли 3 мл 3%-го раствора $AlCl_3$, доводили объем до метки в обеих колбах 70% этанолом и перемешивали (раствор Б). В качестве раствора сравнения использовали раствор из первой колбы (без добавления раствора $AlCl_3$). Оптическую плотность раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 395 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times 100 \times 100}{2,0 \times m \times 345 \times (100 - W)}$$

где:

D – оптическая плотность раствора Б;

345 – удельный показатель поглощения лютеолин-7-глюкозида при 395 нм;

m – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Статистическую обработку осуществляли по методике, описанной в ГФ XV [7].

Основные результаты

Для количественного анализа использовали метод дифференциальной спектрофотометрии [4], [6], [8], [9], [10]. Нами был проведен спектрофотометрический анализ водно-спиртовых извлечений из травы буквицы лекарственной (рис. 1), который позволил установить, что доминирующими флавоноидами является лютеолин-7-глюкозид. Спектр поглощения флавоноидов из сырья буквицы совпадает со спектром поглощения лютеолин-7-глюкозида – 395 нм [4], [6]. Следовательно, лютеолин-7-глюкозид может быть использован в методике количественного анализа в качестве стандарта.

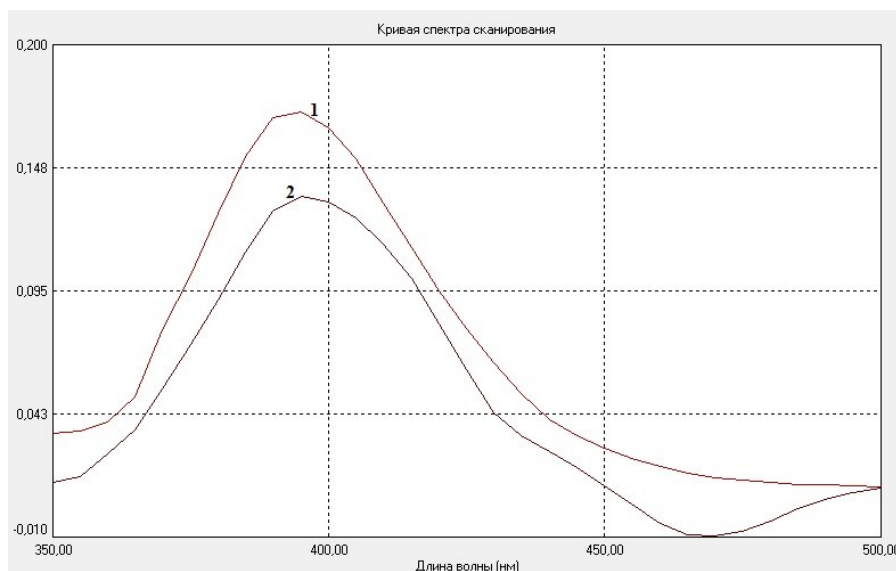


Рисунок 2 - Электронный спектр стандартного образца лютеолин-7-глюкозида с добавлением алюминия хлорида раствора 3% (2) и извлечения из надземной части *Betonica officinalis* с добавлением алюминия хлорида раствора 3% (1)

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.39.1>

В ходе экспериментов нами изучены условия экстракции флавоноидов в зависимости от концентрации экстрагента, степени измельченности, времени экстрагирования, соотношения сырья и экстрагента.

Было установлено, что оптимальной концентрацией экстрагента спирта этилового (изучались концентрации 95%, 70%, 40%) является 70%. При определении оптимальной степени измельченности сырье измельчали, просеивали через сито и брали навески с определенным размером частиц, мм: 0,5; 1,0; 2,0;. Установлено, что степень измельчения от 0,5 до 2 мм сильного влияния на экстракцию не оказывает, поэтому в качестве оптимальной нами выбрана средняя степень измельчения 1 мм. В ходе экспериментов было также установлено, что максимальное количество флавоноидов извлекалось при соотношении «сырье – экстрагент» 1:200 и времени экстракции в течение 90 минут. Изучался диапазон соотношения «сырье – экстрагент» от 1:50 до 1:300 и времени экстракции от 30 до 120 минут.

При изучении спектральных характеристик извлечений из травы буквицы, полученных различных водно-спиртовых смесях различной концентрации, содержащие 3% AlCl_3 , наблюдали основной максимум поглощения в области 395 ± 2 нм, характерный для флавоноидов [4], [6].

Представлялось интересным проанализировать возможность использования 395 нм в качестве аналитической длины волны при количественном определении суммы флавоноидов буквицы. Для количественного спектрофотометрического анализа необходим стандарт или величина удельного показателя поглощения флавоноидов. В фармакопейных анализах классическим стандартом флавоноидов является рутин. Но он имеет максимум 412 ± 2 нм [4], [6]. В нашей работе в качестве стандарта был использован лютеолин-7-глюкозид, который с хлоридом алюминия имеет максимум при 395 ± 2 нм (рис. 1) и также используется в методиках анализа сырья, содержащего флавоноиды [4], [6]. Следовательно, лютеолин-7-глюкозид по спектральным характеристикам близок к флавоноидам травы буквицы и может быть использован в методике количественного анализа в качестве стандарта.

С целью пересчета содержания веществ фенольной природы в извлечении из травы буквицы на лютеолин-7-глюкозид нами был использован удельный показатель поглощения лютеолин-7-глюкозида при $\lambda=395$ нм для дифференциальной спектрофотометрии [4], [6]. Значение $\epsilon=345$ было включено в формулу расчета, что позволило не использовать CO лютеолин-7-глюкозида в последующих определениях.

Максимальное количество флавоноидов из травы буквицы в оптимальных условиях составило 0,74%, что позволяет поставить это растение по содержанию флавоноидов в один ряд с уже используемыми лекарственными растениями – источниками флавоноидов.

Для установления метрологических характеристик методики, согласно рекомендациям [7], проводили пять параллельных определений, затем вычисляли величину стандартного отклонения ($S=0,02167$) и дисперсию ($S^2=0,00047$). Полуширина доверительного интервала (ΔX) составила 0,099, ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет не более $\pm 3,66\%$ при определении суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на лютеолин-7-глюкозид. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии систематической ошибки разработанной нами методики и позволяют предложить ее для количественного определения суммарного содержания флавоноидов в траве буквицы в пересчете на лютеолин-7-глюкозид.

Заключение

Проведено количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид с использованием показателя поглощения лютеолин-7-глюкозида при $\lambda=395$ нм для дифференциальной спектрофотометрии. Установлены оптимальные параметры экстракции: сырье размером частиц не более 1 мм, экстрагент – 70%-й спирт этиловый, массовое соотношение «сырье – экстрагент» 1:200, время экстракции на кипящей

водяной бане в течение 90 минут. Определены параметры УФ-спектра водно-спиртового извлечения из травы буквицы максимум при $\lambda=395\pm 2$ нм. Содержание суммы флавоноидов в сырье буквицы составляет 0,74%.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Артемьева В.В. Лекарственное сырье *Betonica officinalis* L. – источник биологически активных соединений / В.В. Артемьева // Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы. — 2018. — 1. — С. 59–63.
2. Paun G. Phytochemical analysis and in vitro biological activity of *Betonica officinalis* and *Salvia officinalis* extracts / G. Paun // Romanian Biotechnological Letters. — 2017. — 4. — P. 12751–12761.
3. Kostrakiewicz-Gierałt K. The impact of habitat conditions on the performance of generative ramet clusters of high medicinal value, rare species *Betonica officinalis* L. / K. Kostrakiewicz-Gierałt // International Journal of Conservation Science. — 2017. — 8. — P. 167–174.
4. Куркина А.В. Актуальные вопросы химической стандартизации лекарственных растений, содержащих флавоноиды / А.В. Куркина // Фармация. — 2012. — 7. — С. 44–48.
5. Курдюков Е. Е. Флавоноиды: классификация, биологические свойства и перспективы использования в медицине / Е. Е. Курдюков, Д. А. Плешакова, Н. Н. Глебова // Международный научно-исследовательский журнал. — 2023. — 11. DOI: 10.23670/IRJ.2023.137.143.
6. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография / А.В. Куркина. — Самара : Офорт; ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. — 290 с.
7. Государственная фармакопея 15 издание. — 2023. — URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (дата обращения: 23.10.2024).
8. Куркин В.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в цветках боярышника полумягкого / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Т.В. Морозова // Химия растительного сырья. — 2019. — 3. — С. 137–144.
9. Сень Т.В. Разработка методик качественной идентификации и количественного определения суммы флавоноидов в траве вяза разноцветного (*Coronilla varia* L.) / Т.В. Сень, В.Н. Бубенчикова, К.Р. Бубенчикова // Химия растительного сырья. — 2024. — 2. — С. 237–244.
10. Айрапетян Э.Э. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в полыни метельчатой траве / Э.Э. Айрапетян, В.Н. Леонова, Д.А. Коновалов // Человек и его здоровье. — 2022. — 2. — С. 105–112.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Artem'eva V.V. Lekarstvennoe syr'e *Betonica officinalis* L. – istochnik biologicheskii aktivnykh soedinenij [Medicinal raw materials *Betonica officinalis* L. – a source of biologically active compounds] / V.V. Artem'eva // Pharmaceutical Botany: modernity and prospects. — 2018. — 1. — P. 59–63. [in Russian]
2. Paun G. Phytochemical analysis and in vitro biological activity of *Betonica officinalis* and *Salvia officinalis* extracts / G. Paun // Romanian Biotechnological Letters. — 2017. — 4. — P. 12751–12761.
3. Kostrakiewicz-Gierałt K. The impact of habitat conditions on the performance of generative ramet clusters of high medicinal value, rare species *Betonica officinalis* L. / K. Kostrakiewicz-Gierałt // International Journal of Conservation Science. — 2017. — 8. — P. 167–174.
4. Kurkina A.V. Aktual'nye voprosy himicheskoi standartizatsii lekarstvennykh rastenij, sodержaschih flavonoidy [Topical issues of chemical standardization of medicinal plants containing flavonoids] / A.V. Kurkina // Pharmacy. — 2012. — 7. — P. 44–48. [in Russian]
5. Kurdjukov E. E. Flavonoidy: klassifikatsija, biologicheskie svojstva i perspektivy ispol'zovanija v meditsine [Flavonoids: classification, biological properties and prospects of use in medicine] / E. E. Kurdjukov, D. A. Pleshakova, N. N. Glebova // International Scientific Research Journal. — 2023. — 11. DOI: 10.23670/IRJ.2023.137.143. [in Russian]
6. Kurkina A.V. Flavonoidy farmakopejnykh rastenij: monografija [Flavonoids of pharmacopoeia plants: monograph] / A.V. Kurkina. — Samara : Ofort; GBOU VPO SamGMU Minzdravotsrazvitija Rossii, 2012. — 290 p. [in Russian]
7. Gosudarstvennaja farmakopeja 15 izdanie [State Pharmacopoeia 15th edition]. — 2023. — URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (accessed: 23.10.2024). [in Russian]
8. Kurkin V.A. Razrabotka metodiki kolichestvennogo opredelenija summy flavonoidov v tsvetkah bojarjshnika polumjagkogo [Development of a technique for quantifying the amount of flavonoids in the flowers of the semi-soft hawthorn] / V.A. Kurkin, O.E. Pravdivtseva, T.V. Morozova // Chemistry of Plant Raw Materials. — 2019. — 3. — P. 137–144. [in Russian]
9. Sen' T.V. Razrabotka metodik kachestvennoj identifikatsii i kolichestvennogo opredelenija summy flavonoidov v trave vjazelja raznotsvetnogo (*Coronilla varia* L.) [Development of methods for qualitative identification and quantitative

determination of the amount of flavonoids in the grass of varicolored knotweed (*Coronilla varia* L.) / T.V. Sen', V.N. Bubenchikova, K.R. Bubenchikova // Chemistry of Plant Raw Materials. — 2024. — 2. — P. 237–244. [in Russian]

10. Ajrapetjan E.E. Razrabotka metodiki kolichestvennogo opredelenija summy flavonodov v polyni metel'chatoj trave [Development of a technique for quantifying the amount of flavonoids in wormwood paniculate grass] / E.E. Ajrapetjan, V.N. Leonova, D.A. Konovalov // Man and His Health. — 2022. — 2. — P. 105–112. [in Russian]