

УДК 615.322.07:582.998.5:581.19:577.164.32:543.422.3

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В СЫРЬЕ «ВАХТЫ ТРЕХЛИСТНОЙ ЛИСТЬЯ»

© В.Ю. Андреева^{1*}, Н.С. Зиннер², Т.В. Кадырова¹, М.В. Белоусов¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет, Московский тракт, 2, Томск, 634050, Россия, vilival@yandex.ru

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36, Томск, 634050, Россия

Цель исследования – оптимизация методики количественного определения флавоноидов в листьях вахты трехлистной. В официальной медицине листья *Menyanthidis trifoliatae* используются при анорексии и диспепсических расстройствах; при этом стимулируется секреция желудка и слюны. В исследованиях разных авторов показано, что экстракты листьев и корневищ вахты обладают противовоспалительным, противоотечным, антирадикальным, цитотоксическим действием, а также проявляют антимикробные эффекты и противоязвенные свойства.

В действующей нормативной документации (Государственная фармакопея РФ XIV издания) предложено оценивать качество сырья по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на рутин с использованием спектрофотометрии, основанной на способности флавоноидов, содержащих свободные ароматические гидроксильные группы образовывать с диазотированной сульфаниловой кислотой окрашенные продукты. Недостатком данной методики является длительный и трудоемкий этап очистки сырья от некоторых групп липофильных веществ, которые также могут вступать в реакцию с диазотированной сульфаниловой кислотой с образованием окрашенных продуктов. Нами предложена избирательная методика количественного определения флавоноидов в листьях вахты трехлистной методом спектрофотометрии в пересчете на рутин, основанная на их способности образовывать устойчивые окрашенные комплексы с алюминия хлоридом в кислой среде и разработаны оптимальные условия экстракции и реакции комплексообразования алюминия хлорида с флавоноидами экстракта *M. trifoliatae*. Предложенная методика валидирована и пригодна для использования в аналитической лаборатории.

Ключевые слова: *Menyanthes trifoliatae*, листья, флавоноиды, рутин, стандартизация, спектрофотометрия, количественное определение.

Для цитирования: Андреева В.Ю., Зиннер Н.С., Кадырова Т.В., Белоусов М.В. Оптимизация методики количественного определения флавоноидов в сырье «Вахты трехлистной листья» // Химия растительного сырья. 2024. №1. С. 195–202. DOI: 10.14258/jcprm.20240112867.

Введение

Вахта трехлистная (*Menyanthes trifoliata* L., сем. *Menyanthaceae*) растет в умеренных зонах Северного полушария Европы, Азии, Северной Америки на болотах и прудах, на заиленных берегах озер, в медленно текущих водоемах, в канавах и на влажных лугах от равнин до альпийских высот [1–3].

В официальной медицине надземная часть вахты трехлистной используется при анорексии и диспепсических расстройствах; при этом стимулируется секреция желудка и слюны [1, 4].

В народной медицине разных стран листья *M. trifoliatae* с давних времен широко используются при расстройствах желудка, запорах, вздутии живота, гастрите и изжоге, при ревматических заболеваниях, мигрени, кожных заболеваниях, цинге, гипертонии, астме и респираторных заболеваниях [1, 5, 6].

В экспериментах показано, что экстракты листьев и корневищ вахты обладают противовоспалительным, противоотечным, антирадикальным, противоязвенным и иммуностимулирующим действиями, был обнаружен цитотоксический, антимикробные эффекты [7–16].

Химический состав вахты трехлистной достаточно разнообразен. Согласно литературным данным, листья вахты содержат секоиридоиды, иридоиды, флавоноиды, кумарины, тритерпены, фенолокислоты и их производные, полисахариды, алкалоиды, аскорбиновую кислоту и др. [1, 4].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Доминирующей группой биологически активных веществ вахты трехлистной, отвечающей за терапевтический эффект, являются секоиридоидные гликозиды: дигидрофолиаментин, фолиаментин, ментиафоллин, сверозид и др. [1, 4].

Другой важной группой являются фенольные соединения в листьях вахты, а именно флавоноиды, представленные в надземной части *M. trifoliatae* гиперозидом, рутином, трифолином, изокверцетином, гесперидином, гесперитином, лютеолином [1, 4], ответственные за ряд терапевтических эффектов, показанных в экспериментальных исследованиях.

В действующей нормативной документации (Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания (2018) ФС .2.5.0065.18 «Вахты трехлистной листья») предложено оценивать качество сырья по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на рутин с использованием спектрофотометрии [17]. Предложенная методика основана на способности флавоноидов, содержащих свободные ароматические гидроксильные группы могут вступать в реакцию с диазотированной сульфаниловой кислотой окрашенные продукты. Недостатком данной методики является длительный и трудоемкий этап очистки сырья от некоторых групп липофильных биологически активных соединений, которые также могут реагировать с диазотированной сульфаниловой кислотой с образованием окрашенных продуктов. При этом существует избирательная методика количественного определения флавоноидов, основанная на их способности образовывать устойчивые в кислой среде батохромные окрашенные комплексы с алюминия хлоридом, в образовании которых принимают участие прежде всего свободные 3- и 5-гидроксильные группы и оксогруппа пиранового кольца флавоноидов.

Цель нашего исследования – оптимизация методики количественного определения флавоноидов в листьях вахты трехлистной.

Экспериментальная часть

Объектом исследования служили образцы листьев *Menyanthes trifoliata* L. (сем. *Menyanthaceae*), заготовленные в окрестностях села Тимирязевское Томской области в 2021 г. и в Кожевниковском районе Томской области в 2022 г. после цветения и высушенные воздушно-теневого сушкой до воздушно-сухого состояния, а также промышленные образцы «Листья вахты трехлистной» (компания «Хорст», 2021 г. и 2022 г.).

Определение содержания суммы флавоноидов в сырье вахты проводили методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием фармакопейной методики [17] и методики, разработанной нами в ходе настоящего исследования. При разработке методики водно-спиртовые извлечения из надземной части *M. trifoliata* получали методом экстракции на водяной бане с изменением параметров процесса. Электронные спектры поглощения водно-спиртовых извлечений измеряли на спектрофотометре СФ-2000 в кварцевых кюветках с толщиной поглощающего слоя 10 мм в диапазоне волн 200–400 нм. В качестве стандартного образца (СО) использовали стандартный образец рутина фирмы «Sigma».

Валидационные испытания методики проводили методами математической статистики по следующим показателям: прецизионность (повторяемость), правильность, воспроизводимость (лабораторная и межлабораторная), и линейность [18]. Для статистической обработки результатов использовали пакет прикладных программ «Microsoft Excel 2007».

Результаты и обсуждение

При изучении спектральных характеристик извлечений из надземной части *M. trifoliatae*, полученных различными экстрагентами (водно-спиртовые смеси различной концентрации), наблюдали основной максимум поглощения в области 409 ± 2 нм, характерный для рутина (рис. 1) [19]. Определено, что спектры поглощения при реакции водно-спиртовых извлечений *M. trifoliatae* и стандартного образца (СО) рутина с алюминия хлорида раствором 10% имеют сходные характеристики, причем наблюдается батохромный сдвиг длинноволновой полосы флавоноидов в видимую область и максимум поглощения рутина находится в области 409 ± 2 нм (рис. 2), что дает возможность использовать данное вещество в качестве стандартного и проводить пересчет суммы флавоноидов на рутин. Содержание рутина в надземной части *M. trifoliatae* было также подтверждено методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе растворителей: *n*-бутанол – кислота уксусная ледяная – вода (4 : 1 : 2).

При разработке методики было изучено влияние на выход флавоноидов следующих факторов: степень измельченности сырья, природа экстрагента, соотношение сырье : экстрагент, длительность экстракции при температуре кипения (табл. 1).

В результате эксперимента в качестве оптимального экстрагента нами был выбран 70% этиловый спирт, так как выход действующих веществ из сырья при его использовании максимален. Далее нами был изучен вопрос продолжительности экстракции на кипящей водяной бане, в таблице 1 представлена зависимость выхода суммы флавоноидов листьев вахты трехлистной от времени экстракции, при этом было выбрано время экстракции 45 мин. Был сделан выбор в пользу одностадийного способа экстракции, так как увеличение числа операций часто приводит к возрастанию ошибки.

Максимальный выход флавоноидов наблюдается при соотношении «сырье : экстрагент» 1 : 25, по этой причине данное соотношение было выбрано нами в качестве оптимального.

При изучении влияния степени измельченности сырья на полноту экстракции из надземной части в. трехлистной установлено, что максимальный выход действующих веществ наблюдается при размере частиц 1 мм в связи с этим была выбрана данная степень измельчения, что соответствует установленному значению в фармакопейной статье [17].

Таким образом, было определено, что оптимальными параметрами экстракции являются: однократное извлечение 70% этиловым спиртом на кипящей водяной бане в течение 45 мин в соотношении «сырье : экстрагент» – 1 : 25 и степенью измельчения частиц сырья 1 мм (табл. 1).

В процессе разработки методики количественного определения проведена серия опытов по варьированию условий (количество 10% этанольного раствора алюминия хлорида и кислоты уксусной 30%, время экспозиции) проведения реакции комплексообразования алюминия (III) хлорида с суммой флавоноидов водно-спиртового-извлечения из листьев *M. trifoliatae* (табл. 2).

Таким образом, были установлены оптимальные условия проведения реакции комплексообразования алюминия хлорида с суммой флавоноидов этанольного экстракта *M. trifoliatae*: объем 10% этанольного раствора алюминия (III) хлорида – 1 мл; объем 30% кислоты уксусной раствора – 0.2 мл; время экспозиции реакции комплексообразования – 20 мин.

Рис. 1. Электронный спектр стандартного образца рутин с добавлением алюминия хлорида раствора 5% (1) и извлечения из надземной части *M. trifoliatae* с добавлением алюминия хлорида раствора 10% (2)

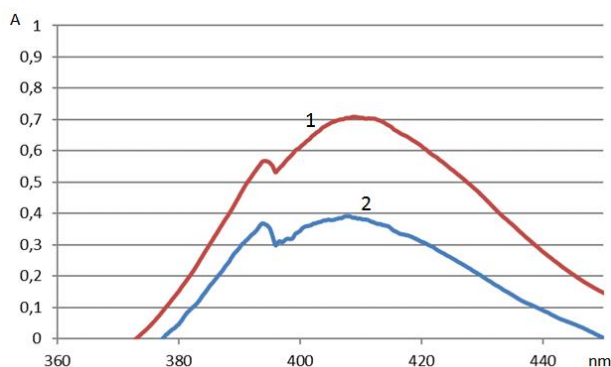


Таблица 1. Влияние условий экстрагирования на содержание суммы флавоноидов в листьях вахты трехлистной в пересчете на абсолютно сухое сырье и рутин

Концентрация водно-спиртовых извлечений, %	Соотношение «сырье : экстрагент»	Время экстракции на кипящей водяной бане, мин.	Измельченность, мм	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на абс. сухое сырье и рутин
Вода				0.66±0.04
40% этиловый спирт	1 : 50	60	1	0.44±0.03
70% этиловый спирт				0.98±0.03
70% этиловый спирт				0.43±0.01
70% этиловый спирт	1 : 25	60	1	0.99±0.04
70% этиловый спирт	1 : 25	30	1	0.84±0.02
70% этиловый спирт		45		1.08±0.03
70% этиловый спирт	1 : 25	45	3	0.94±0.03
			5	0.77±0.02

Таблица 2. Зависимость оптической плотности от объема прибавляемых реактивов и времени проведения реакции

	Условия проведения реакции										
	Объем 10% раствора AlCl ₃ , мл*				Объем 30% раствора кислоты уксусной, мл**			Время реакции, мин***			
	0.5	1	2	3	0.1	0.2	0.3	10	20	30	40
Оптическая плотность (А)	0.31	0.38	0.37	0.37	0.22	0.38	0.37	0.35	0.38	0.38	0.38
Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %	0.81	1.01	1.00	1.00	0.58	1.01	1.00	0.93	1.01	1.01	1.01

Примечание: * Объем 30% раствора кислоты уксусной – 0.2 мл; время реакции – 20 мин; ** Объем 10% алюминия (III) хлорида этанольного раствора – 1 мл; время реакции – 20 мин; *** Объем 30% кислоты уксусной раствора – 0.2 мл; 10% алюминия (III) хлорида этанольного раствора – 1 мл.

Методика количественного определения содержания суммы флавоноидов в листьях вахты трехлистной. Аналитическую пробу листьев вахты трехлистной измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1.0 г (точная навеска) измельченной пробы помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл 70% этилового спирта. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 45 мин. После охлаждения до комнатной температуры содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят до метки (испытуемый раствор А).

Испытуемый раствор Б готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 0.2 мл 30% кислоты уксусной раствора, 1 мл 10% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 96% этиловым спиртом (испытуемый раствор Б).

Раствор сравнения готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу на 25 мл, добавляют 0.2 мл 30% кислоты уксусной раствора, доводят объем раствора до метки 96% этиловым спиртом (раствор сравнения).

Для расчета содержания суммы флавоноидов готовят раствор стандартного образца (СО) рутин, добавляют к нему 10% спиртовой раствор алюминия хлорида, измеряют оптическую плотность окрашенного комплекса при аналитической длине волны 409 нм и определенное значение оптической плотности используют в формуле расчета.

Приготовление раствора СО рутин: около 0.05 г (точная навеска) СО рутин, предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 130–135 °С, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 85 мл спирта 96% при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят объем спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор А СО рутин). Срок годности раствора – 30 сут.

1.0 мл раствора А СО рутин помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 0.5 мл кислоты уксусной раствора 30%, 1 мл алюминия хлорида раствора 5% и доводят до метки спиртом 96% и перемешивают (раствор Б СО рутин). Измерение оптической плотности проводят при длине волны 409 нм через 20 мин после приготовления всех растворов.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{D > m_0 > V_1 > V_3 > V_5 > 100 > 100}{D_0 > m > V_4 > V_2 > V_6 > (100 - W)}$$

где x – содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %; D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора СО рутин; m – масса сырья, г; m_0 – масса СО рутин, г; W – потеря в массе при высушивании, %; V_1 – объем экстрагента (70% спирт этиловый), мл; V_2 – объем аликвоты извлечения для получения испытуемого раствора Б, мл; V_3 – объем испытуемого раствора Б, мл; V_4 – объем раствора А СО рутин, мл; V_5 – объем аликвоты раствора А СО рутин для получения испытуемого раствора Б СО рутин, мл; V_6 – объем испытуемого раствора Б СО рутин, мл.

В случае отсутствия стандартного образца рутин целесообразно использовать теоретическое значение его удельного показателя поглощения, равное 248 [19]:

$$X = \frac{D > V_1 > V_3 > 100}{m > V_2 > 248 > (100 - W)}$$

где x – содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %; D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 248 – удельный показатель поглощения стандартного образца рутина при 409 нм; W – потеря в массе при высушивании, %; V_1 – объем экстрагента (70% спирт этиловый), мл; V_2 – объем аликвоты извлечения для получения испытуемого раствора Б, мл; V_3 – объем испытуемого раствора Б, мл.

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: повторяемость, правильность, линейность и воспроизводимость. Вычисленные значения величины относительного стандартного отклонения (RSD) – 0.02% и относительного доверительного интервала среднего значения – 1.73% не превышают критериев приемлемости – 5%, что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости (табл. 3).

Воспроизводимость методики определяли в интервале концентраций 75–125% от принятого опорного значения на идентичных образцах сырья, в двух различных лабораториях СибГМУ. Меры прецизионности для данного метода измерений не превышают критериев приемлемости, как для внутрилабораторной прецизионности $3.68\% < 10\%$, так и для межлабораторной прецизионности $5.25\% < 15\%$, что указывает на хорошую воспроизводимость методики.

Линейность аналитической методики определяли на пяти уровнях концентрации. Образцы готовили путем изменения аликвоты. Установлено, что график зависимости имеет линейный характер в области концентрации суммы флавоноидов и описывается уравнением: $y = 0.099x + 0.697$. Коэффициент корреляции близок к единице – 0.9933, что свидетельствует об удовлетворительной линейной зависимости значения оптической плотности от содержания действующих веществ. График зависимости представлен на рисунке 2.

Правильность методики устанавливали методом добавок на идентичных образцах вахты трехлистной с добавлением известного количества СО рутина. Средняя величина процента восстановления при использовании растворов заданных концентраций составила 99.94%.

Были также проанализированы образцы с использованием разработанной методики и методики ГФ РФ XIV издания [17]. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 3. Результаты оценки повторяемости методики

№ опыта	1	2	3	4	5	6		
Содержание флавоноидов в пересчете на рутин, %	1.08	1.02	0.99	1.00	1.01	1.01		
Метрологические характеристики								
$X_{\text{ср}}$	S^2	S	S_x	S_r	P (%)	$t(P, f)$	$\Delta x_{\text{ср}}$	$\varepsilon, \%$
1.02	0.004	0.02	0.008	0.02	95	2.57	± 0.02	± 1.73

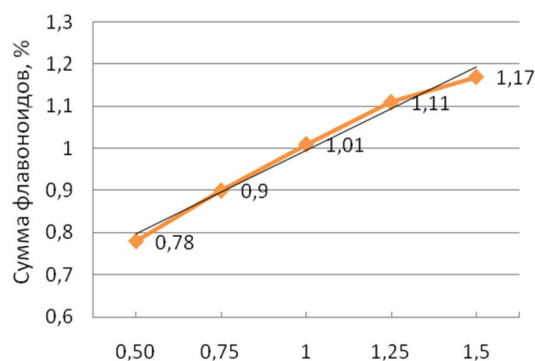


Рис. 2. График линейной зависимости между оптической плотностью и содержанием суммы флавоноидов в листьях вахты трехлистной

Таблица 4. Содержание флавоноидов в листьях вахты трехлистной

Лекарственное растительное сырье	Содержание флавоноидов, % (разработанная методика)	Содержание флавоноидов, % (ГФ РФ XIV изд.)
Промышленный образец «Листья вахты трехлистной» (компания «Хорст», 2021 г.)	0.31±0.01	0.81±0.05
Промышленный образец «Листья вахты трехлистной» (компания «Хорст», 2022 г.)	0.59±0.02	1.35±0.11
Листья вахты трехлистной (с. Тимирязевское Томской области, 2021 г.)	1.08±0.03	1.83±0.09
Листья вахты трехлистной (Кожевниковский район, 2022 г.)	0.88±0.02	1.67±0.12

Сравнение результатов показало, что использование фармакопейного метода дает результат достоверно выше, чем по разработанной нами методике. Вероятно, это связано с тем, что в реакцию с диазотированной сульфаниловой кислотой могут вступать и другие соединения, например, фенолокислоты, дубильные вещества и др., тогда как реакция комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом в кислой среде является избирательной.

Выводы

Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях *Menyanthidis trifoliatae* методом спектрофотометрии, основанная на образовании окрашенных комплексов с раствором алюминия хлорида, в т.ч.:

– Предложены оптимальные условия экстракции суммы флавоноидов: экстрагент – 70% спирт этиловый, однократная экстракция на кипящей водяной бане в течение 45 мин; соотношение сырья и экстрагента – 1 : 25, степень измельченности сырья – 1 мм.

– Установлены оптимальные условия проведения реакции комплексообразования алюминия хлорида с суммой флавоноидов водно-спиртового извлечения из листьев вахты трехлистной: объем 10% этанольного раствора алюминия хлорида – 1 мл; объем 30% кислоты уксусной раствора – 0.2 мл; время экспозиции реакции комплексообразования – 20 мин.

– Проведена валидация предложенной методики по параметрам: повторяемость, правильность, линейность и воспроизводимость. На основании полученных данных установлено, что предложенная методика пригодна для использования в аналитической лаборатории для количественного определения суммы флавоноидов в листьях *Menyanthidis trifoliatae*.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Сибирского государственного медицинского университета и Национального исследовательского Томского государственного университета. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Latté K.P. *Menyanthes trifoliata* L. – der Fiebertlee // Zeitschrift für Phytotherapie. 2020. Vol. 41(02). Pp. 101–108. DOI: 10.1055/a-0899-6253.
2. Малышева Л.И. *Menyanthes* L. – вахта // Флора Сибири. Новосибирск, 1988. Т. 11. С. 85.
3. Шишкин Б.К. *Menyanthes* L. – вахта // Флора СССР. М., 1952. Т. XVIII. С. 652.
4. Растительные ресурсы России: дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность: в 4 т. / под ред. А.Л. Буданцева. СПб, 2011. Т. 4. С. 67–68.
5. European Pharmacopoeia, 10-th ed. Strasbourg: Council of Europe, 2019. Vol. 1. Pp. 1360–1361.
6. Madaus G. Lehrbuch der biologischen Heilmittel. Bd. 3. Monographie "*Menyanthes trifoliata*". Leipzig: Georg Thieme, 1938. Pp. 1885–1891.
7. Zhu J.-J., Yang H.-X., Li Z.-H. et al. Anti-inflammatory lupane triterpenoids from *Menyanthes trifoliata* // J. Asian Nat. Prod. Res. 2019. Vol. 21. Pp. 597–602. DOI: 10.1080/10286020.2018.1460363.
8. Tunón H., Bohlin L. Anti-inflammatory studies on *Menyanthes trifoliata* related to the effects shown against renal failure in rats // Phytomedicine. 1995. Vol. 2. Pp. 103–112.
9. Huang C., Tunon H., Bohlin L. Anti-inflammatory compounds isolated from *Menyanthes trifoliata* L. // Acta Pharmaceutica Sinica. 1995. Vol. 30. Pp. 621–626.
10. Kowalczyk T., Sitarek P., Skala E., Rijo P. et al. An evaluation of the DNA-protective effects of extracts from *Menyanthes trifoliata* L. plant derived in vitro culture associated with redox balance and other biological activities // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2019. Article 9165784. DOI: 10.1155/2019/9165784.
11. Lindholm P., Gullbo J., Claeson P. et al. Selective cytotoxicity evaluation in anticancer drug screening of fractionated plant extracts // J. Biomol. Screen. 2002. Vol. 7(4). Pp. 333–340. DOI: 10.1177/108705710200700405.

12. Kowalczyk T., Sitarek P., Skała E., Toma M. et al. Induction of apoptosis by in vitro and in vivo plant extracts derived from *Menyanthes trifoliata* L. in human cancer cells // *Cytotechnology*. 2019. Vol. 71. Pp. 165–180. DOI: 10.1007/s10616-018-0274-9.
13. Vanišová E., Krajčovič T., Tokár M. et al. Potential of wild plants as a source of bioactive compounds // *Animal Sci. Biotechnol.* 2017. Vol. 50. Pp. 109–114.
14. Paudel B., Bhattarai H.D., Kim C. et al. Estimation of antioxidant, antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of plants collected from Oymyakon region of the Republic of Sakha (Yakutia), Russia // *Biol. Res.* 2014. Vol. 47(1). P. 10. DOI: 10.1186/0717-6287-47-10.
15. Weckesser S., Engel K., Simon-Haarhaus B. et al. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeast with dermatological relevance // *Phytomedicine*. 2007. Vol. 14. Pp. 508–516. DOI: 10.1016/j.phymed.2006.12.013.
16. Kuduk-Jaworska J., Szpunar J., Gąsiorowski K., Brokos B. Immunomodulating Polysaccharide Fractions of *Menyanthes trifoliata* L. // *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2004. Vol. 59, no. 7-8. Pp. 485–493. DOI: 10.1515/znc-2004-7-806.
17. ФС.2.5.0065.18. Вахты трехлистной листья // Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. М., 2018. Т. 4. С. 5965–5971.
18. ОФС.1.1.0012.15. Валидация аналитических методик // Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. М., 2018. Т. 1. С. 276–288.
19. ФС.2.5.0067.18. Горца перечного трава // Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. М.: Минздрав России, 2018. Т. 4. С. 5992–5994.

Поступила в редакцию 13 апреля 2023 г.

После переработки 23 мая 2023 г.

Принята к публикации 8 сентября 2023 г.

Andreeva V.Yu.^{1}, Zinner N.S.², Kadyrova T.V.¹, Belousov M.V.¹* OPTIMIZATION OF THE METHOD OF QUANTITATIVE DEFINITIONS OF FLAVONOIDS IN THE RAW MATERIALS OF "MENYANTHIDIS TRIFOLIATAE LEAVES"

¹ *Siberian State Medical University, Moskovsky trakt, 2, Tomsk, 634050, Russia, e-mail: vilival@yandex.ru*

² *National Research Tomsk State University, pr. Lenina, 36, Tomsk, 634050, Russia*

The aim of the study is to optimize the methodology of quantitative determination of flavonoids in the leaves of *Menyanthidis trifoliatae*. In official medicine, the leaves of *Menyanthidis trifoliatae* are used for anorexia and dyspeptic disorders.

In the current regulatory documentation (State Pharmacopoeia of the Russian Federation), it is proposed to evaluate the quality of raw materials by the content of the amount of flavonoids in terms of rutin using spectrophotometry. This technique is based on the ability of flavonoids containing free aromatic hydroxyl groups to form colored products with diazotized sulfanilic acid. The disadvantage of this technique is the long and time-consuming stage of cleaning raw materials from certain groups of lipophilic substances, which can also react with diazotized sulfanilic acid to form colored products.

We have proposed a selective method for the quantitative determination of flavonoids in the herb trifoliatae by the method of spectrophotometry in terms of rutin. The technique is based on the ability of flavonoids to form stable colored complexes with aluminum chloride. We have selected the optimal conditions for extraction and complexation reaction of aluminum chloride with flavonoids of *M. trifoliatae* extract. The proposed method has been validated and is suitable for use in an analytical laboratory.

Keywords: Menyanthes trifoliata, leaves, flavonoids, rutin, standardization, spectrophotometry, quantitative determination.

For citing: Andreeva V.Yu., Zinner N.S., Kadyrova T.V., Belousov M.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 1, pp. 195–202. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240112867.

References

1. Latté K.P. *Zeitschrift für Phytotherapie*, 2020, vol. 41(02), pp. 101–108. DOI: 10.1055/a-0899-6253.
2. Malysheva L.I. *Flora Sibiri*. [Flora of Siberia]. Novosibirsk, 1988, vol. 11, p. 85. (in Russ.).
3. Shishkin B.K. *Flora SSSR*. [Flora of the USSR]. Moscow, 1952, vol. XVIII, p. 652. (in Russ.).
4. *Rastitel'nyye resursy Rossii: dikorastushchiye tsvetkovyye rasteniya, ikh komponentnyy sostav i biologicheskaya aktivnost': v 4 t.* [Plant resources of Russia: wild flowering plants, their component composition and biological activity: in 4 volumes], ed. A.L. Budantsev. St. Petersburg, 2011, vol. 4, pp. 67–68. (in Russ.).
5. *European Pharmacopoeia, 10-th ed.* Strasbourg: Council of Europe, 2019, vol. 1, pp. 1360–1361.

* Corresponding author.

6. Madaus G. *Lehrbuch der biologischen Heilmittel. Bd. 3. Monographie "Menyanthes trifoliata"*. Leipzig: Georg Thieme, 1938, pp. 1885–1891.
7. Zhu J.-J., Yang H.-X., Li Z.-H. et al. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 2019, vol. 21, pp. 597–602. DOI: 10.1080/10286020.2018.1460363.
8. Tunón H., Bohlin L. *Phytomedicine*, 1995, vol. 2, pp. 103–112.
9. Huang C., Tunon H., Bohlin L. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 1995, vol. 30, pp. 621–626.
10. Kowalczyk T., Sitarek P., Skała E., Rijo P. et al. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, article 9165784. DOI: 10.1155/2019/9165784.
11. Lindholm P., Gullbo J., Claeson P. et al. *J. Biomol. Screen*, 2002, vol. 7(4), pp. 333–340. DOI: 10.1177/108705710200700405.
12. Kowalczyk T., Sitarek P., Skała E., Toma M. et al. *Cytotechnology*, 2019, vol. 71, pp. 165–180. DOI: 10.1007/s10616-018-0274-9.
13. Vanišová E., Krajčovič T., Tokár M. et al. *Animal Sci. Biotechnol.*, 2017, vol. 50, pp. 109–114.
14. Paudel B., Bhattarai H.D., Kim C. et al. *Biol. Res.*, 2014, vol. 47(1), p. 10. DOI: 10.1186/0717-6287-47-10.
15. Weckesser S., Engel K., Simon-Haarhaus B. et al. *Phytomedicine*, 2007, vol. 14, pp. 508–516. DOI: 10.1016/j.phymed.2006.12.013.
16. Kuduk-Jaworska J., Szpunar J., Gašiorowski K., Brokos B. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 2004, vol. 59, no. 7-8, pp. 485–493. DOI: 10.1515/znc-2004-7-806.
17. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. 14-ye izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed.]. Moscow, 2018, vol. 4, pp. 5965–5971. (in Russ.).
18. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. 14-ye izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed.]. Moscow, 2018, vol. 1, pp. 276–288. (in Russ.).
19. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. 14-ye izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed.]. Moscow, 2018, vol. 4, pp. 5992–5994. (in Russ.).

Received April 13, 2023

Revised May 23, 2023

Accepted September 8, 2023

Сведения об авторах

Андреева Валерия Юрьевна – кандидат биологических наук, доцент, vilival@yandex.ru

Зиннер Надежда Сергеевна – кандидат биологических наук, доцент, zinner@inbox.ru

Кадырова Татьяна Владимировна – кандидат фармацевтических наук, доцент, kadyrovatv@yandex.ru

Белюсов Михаил Валерьевич – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтического анализа, mvb63@mail.ru

Information about authors

Andreeva Valeria Yurievna – candidate of biological sciences, associate professor, vilival@yandex.ru

Zinner Nadezhda Sergeevna – candidate of biological sciences, associate professor, zinner@inbox.ru

Kadyrova Tatyana Vladimirovna – candidate of pharmaceutical sciences, associate professor, kadyrovatv@yandex.ru

Belousov Mikhail Valerievich – doctor of pharmaceutical sciences, professor, head of the department of pharmaceutical analysis, mvb63@mail.ru