

УДК 615.32

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ И НАСТОЙКЕ *IRIS LACTEA* (IRIDACEAE)

© Е.Ю. Загорулько\*, М.Г. Ожигова, И.И. Чемесова, В.Г. Лужанин

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия Минздрава России, ул. Профессора Попова, 14, Санкт-Петербург, 197376 (Россия), e-mail: elena.zagorulko@pharminnotech.com

Касатик молочно-белый (*Iris Lactea* Pall.) семейства касатиковые (*Iridaceae* Juss.) содержит комплекс биологически активных веществ, для которых установлено наличие противовирусных, иммуномодулирующих, адаптогенных, антигипоксических, кардиостимулирующих и противоопухолевых свойств. Таким образом, сырье и лекарственные формы на его основе являются перспективными для использования в медицине.

Основными группами действующих веществ надземной части касатика молочно-белого являются флавоноиды и ксантоны. Известна методика хроматоспектрофотометрического определения суммы ксантонов в пересчете на алпизарин. При этом задача разработки удобной методики определения суммы флавоноидов в надземной части касатика молочно-белого и лекарственных препаратах на его основе в настоящее время является актуальной.

Целями работы являлись разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на апигенин в надземной части касатика молочно-белого и его настойке с использованием метода дифференциальной спектрофотометрии по реакции комплексообразования с раствором алюминия хлорида; подтверждение надежности и точности данной методики для анализа настойки касатика молочно-белого по показателям: специфичность, линейность, правильность, прецизионность и сходимости.

В результате анализа данных верификации разработанную методику количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на апигенин можно признать приемлемой для стандартизации сырья и настойки касатика молочно-белого.

*Ключевые слова:* *Iris lactea*, надземная часть, настойка, апигенин, дифференциальная спектрофотометрия.

### Введение

Касатик молочно-белый (*Iris lactea* Pall., syn.: *Eremiris lactea* (Pall.) Rodion., *Iris haematophylla* Fisch. ex Link и др.) – многолетнее травянистое растение рода Ирис (*Iris* L.) семейства касатиковые (*Iridaceae* Juss.) [1]. Произрастает в Восточной Сибири, Дальнем Востоке, Восточной Монголии и на северо-востоке Китая. В Забайкалье касатик молочно-белый имеет обширную сырьевую базу, образуя в местах распространения сплошные заросли [2, 3].

---

Загорулько Елена Юрьевна – ассистент кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов, научный сотрудник центра фармацевтической технологии, e-mail: elena.zagorulko@pharminnotech.com

Ожигова Мария Георгиевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов, e-mail: maria.ozhigova@pharminnotech.com

Чемесова Ирина Ивановна – кандидат фармацевтических наук, химик-аналитик центра контроля качества лекарственных средств, e-mail: irina.chemesova@pharminnotech.com

Лужанин Владимир Геннадьевич – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакогнозии, проректор по административно-кадровой и воспитательной работе, e-mail: vladimir.luzhanin@pharminnotech.com

В надземной части касатика молочно-белого обнаружены флавоноиды, ксантоны, фенолкарбоновые кислоты, олигостильбены и проантоцианидины [4–12]. Флавоноидные гликозиды представлены производными лютеолина и апигенина, при этом большая часть соединений относится к группе С-гликозидов, достаточно редко встречающихся в растительном мире. Метилированными производными апигенина являются С-гликозиды эмбинин, ацетилэмбинин, диацетилэмбинин и др. [4–8].

Другой группой биологически активных веществ (БАВ), содержащихся в надземной части касатика молочно-белого, являются ксантоны. В рас-

---

\* Автор, с которым следует вести переписку.

тении обнаружено четыре вещества ксантоновой природы, среди них преобладают мангиферин и изомангиферин [4].

При изучении фенолкарбоновых кислот установлено, что из 8 выделенных соединений 6 относятся к производным гидроксикоричной и 2 – к производным бензойной кислоты. В большом количестве содержатся феруловая и *n*-кумаровая кислоты [4].

В результате фармакологических исследований надземной части касатика молочно-белого, лекарственных форм на его основе и выделенных соединений установлено наличие противовирусных, иммуномодулирующих, адаптогенных, антигипоксических, кардиостимулирующих, противоопухолевых свойств. Эти свойства связаны с содержанием ксантонов и флавоноидов [13–16].

В 1990-х годах сотрудниками Санкт-Петербургской химико-фармацевтической академии (СПХФА) были разработаны проект фармакопейной статьи на надземную часть касатика молочно-белого, технологии настойки и сухого экстракта, а позже – гранул, таблеток и сиропа на его основе [17–23]. Стандартизация этих лекарственных форм проводилась только по сумме ксантонов в пересчете на алпизарин хромато-спектрофотометрическим методом. Данная методика является трудоемкой и включает в себя хроматографирование извлечения на пластине с незакрепленным слоем сорбента, элюирование пятен ксантонов и стандартного образца (СО) алпизарина с хроматограмм и спектрофотометрическое определение оптической плотности полученного раствора в определенном диапазоне длин волн. Большая трудоемкость и многоэтапность пробоподготовки являлись причинами невысокой точности определения содержания БАВ и затрудняли анализ сырья и лекарственных препаратов на его основе.

Несколько позже – в начале 2000-х – была предпринята попытка стандартизировать сырье по флавоноиду эмбинину с использованием дифференциальной спектрофотометрии [23, 24]. В настоящее время в СПХФА разработана методика выделения эмбинина и его ацетатов из надземной части травы касатика [6]. Следует отметить, что количественное соотношение между эмбинином и его ацетатами, которые, по-видимому, являются продуктами метаболизма растения, может варьировать. В связи с этим стандартизация данного растительного сырья по эмбинину затруднительна и представляет собой отдельную научно-практическую задачу.

Таким образом, методики, ранее использовавшиеся для определения суммы БАВ в надземной части касатика молочно-белого, имеют ряд недостатков. При этом актуальность разработки удобной методики определения суммы флавоноидов для надземной части касатика молочно-белого и лекарственных препаратов на его основе не утрачена. Так как апигенин достаточно близок по спектральным характеристикам к сумме флавоноидов касатика молочно-белого, он может быть использован в качестве стандарта для их определения. Следует отметить, что в настоящее время СО апигенина является более доступным веществом, чем его С-гликозиды.

Цель работы – разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на апигенин в надземной части касатика молочно-белого и его настойке с использованием метода дифференциальной спектрофотометрии по реакции комплексообразования с раствором алюминия хлорида. А также подтверждение надежности и точности данной методики для анализа настойки касатика молочно-белого по показателям: специфичность, линейность, правильность, прецизионность и сходимость.

### **Экспериментальная часть**

Исследование проводилось в СПХФА в 2015 г. Были использованы образцы сырья надземной части касатика молочно-белого, заготовленные в 2013 и 2014 гг. в Забайкалье (Бурятская республика, Гусиноозерский край) в мае и июне, в период цветения растения. Надземную часть собирали на засоленных сухих лугах, где касатик молочно-белый образует сплошные заросли. Сырье высушивали в тени на открытом воздухе, затем измельчали и определяли его числовые показатели по методикам, предложенным в проекте фармакопейной статьи на надземную часть касатика молочно-белого. Полученные результаты во всех случаях удовлетворяли проекту фармакопейной статьи.

Настойку касатика молочно-белого получали по отработанной технологии [23]. Настойка представляла собой прозрачную жидкость темного зеленовато-коричневого цвета с характерным запахом, плотностью  $0.9721 \pm 0.0005$  г/мл и содержанием сухого остатка –  $3.0 \pm 0.2\%$ .

Определение оптической плотности растворов проводили на спектрофотометре Shimadzu 1800. В качестве СО использовали апигенин марки Sigma (чистота 95%).

*Методика определения суммы флавоноидов в надземной части касатика молочно-белого.* Точную навеску (около 5.0 г) сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2.0 мм, помещали в колбу объемом 100 мл, добавляли 50 мл спирта этилового 70% и кипятили на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Извлечение фильтровали в мерную колбу объемом 100 мл. Экстракцию сырья повторяли еще два раза, используя 50 мл того же экстрагента на втором этапе и 30 мл на третьем. Извлечения объединяли, после чего раствор в мерной колбе доводили до метки спиртом этиловым 70%.

*Приготовление испытуемого раствора.* 1 мл извлечения помещали в мерную колбу на 25 мл и доводили до метки спиртом этиловым 70% (раствор  $A_T$ ). 5 мл раствора  $A_T$  помещали в мерную колбу объемом 25 мл, добавляли 5 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида и доводили до метки спиртом этиловым 70%. Для приготовления раствора сравнения 5 мл раствора  $A_T$  помещали в мерную колбу на 25 мл и доводили до метки спиртом этиловым 70%.

*Приготовление раствора СО.* Навеску апигенина около 0.01 г (т. н.) помещали в мерную колбу объемом 100 мл, растворяли в 50 мл спирта этилового 70% и доводили до метки тем же растворителем (раствор Б). 1 мл раствора Б помещали в мерную колбу объемом 10 мл добавляли 1 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида и доводили тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* 1 мл раствора апигенина (раствор Б) помещали в мерную колбу объемом 10 мл и доводили тем же растворителем до метки.

Измерение оптической плотности полученных растворов проводили при аналитической длине волны 393 нм. Содержание в сырье суммы флавоноидов в пересчете на апигенин в процентах определяли по формуле:

$$X = \frac{A_1 \times a_{cm} \times V_1 \times V_2 \times 25 \times 100 \times 100}{A_{cm} \times b_1 \times V_{cm} \times a_1 \times (100 - W)},$$

где  $X$  – содержание суммы флавоноидов в пересчете на апигенин, %;  $A_1$  – оптическая плотность испытуемого раствора;  $A_{ct}$  – оптическая плотность раствора СО;  $a_{ct}$  – навеска СО, г;  $a_1$  – навеска сырья, г;  $b_1$  – аликвота испытуемого образца, взятая для разведения;  $V_1$  – объем извлечения испытуемого образца, мл;  $V_2$  – объем разведенного извлечения испытуемого образца, мл;  $V_{ct}$  – объем раствора СО, мл;  $W$  – потеря в массе при высушивании сырья, %.

*Коэффициент удельного поглощения раствора комплекса апигенина с алюминия хлоридом.* Концентрациям раствора комплекса апигенина с алюминия хлоридом от 0,0002 до 0,0020% соответствуют значения оптической плотности от 0.1 до 1.0%, данная зависимость описывается линейным уравнением:

$$Y = 480.64 \times X + 0.0061.$$

Значение коэффициента удельного поглощения раствора комплекса апигенина с алюминия хлоридом можно принять равным 491 с относительной погрешностью 3%.

*Методика определения суммы флавоноидов в настойке касатика молочно-белого.* 1 мл настойки помещали в мерную колбу объемом 25 мл и доводили до метки спиртом этиловым 40% (раствор  $A_n$ ). 5 мл раствора  $A_n$  помещали в мерную колбу на 25 мл, добавляли 5 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида и доводили до метки спиртом этиловым 40%. Для приготовления раствора сравнения 5 мл раствора  $A_n$  помещали в мерную колбу объемом 25 мл и доводили до метки спиртом этиловым 40%.

Содержание в настойке суммы флавоноидов в пересчете на апигенин в процентах определяли по формуле:

$$X = \frac{A_1 \times a_{cm} \times V_2 \times 25 \times 100}{A_{cm} \times b_1 \times V_{cm}},$$

где  $X$  – содержание суммы флавоноидов в пересчете на апигенин, %;  $A_1$  – оптическая плотность раствора испытуемого образца;  $A_{ct}$  – оптическая плотность раствора СО;  $V_2$  – объем испытуемого образца разведенной настойки, мл;  $a_{ct}$  – навеска СО, г;  $b_1$  – аликвоты испытуемого образца, взятые для разведения;  $V_{ct}$  – объем раствора СО, мл.

Далее проверяли надежность и точность методики, определяя специфичность, линейность, правильность, прецизионность и сходимость, а также стабильность растворов. Для проведения испытаний использовали настойку касатика молочно-белого.

*Специфичность* выбора методики по апигенину подтверждали, используя по три раствора СО и настойки. При этом рассчитывали содержание суммы флавоноидов в испытуемых растворах, включая среднее значение, стандартное отклонение и относительное стандартное отклонение.

При определении *линейности* измеряли величины поглощения в УФ-свете серии растворов СО апигенина разных концентраций. Линейную зависимость представляли в виде формулы:

$$Y = b \times X + a,$$

где  $Y$  – значение величины оптической плотности раствора СО;  $X$  – концентрация раствора СО;  $a$  – свободный член линейной зависимости;  $b$  – угловой коэффициент линейной зависимости.

По пяти растворам СО с различной концентрацией апигенина был построен калибровочный график зависимости отклика показаний прибора на концентрации раствора. Вычислены константы уравнения  $a$  (свободный член линейной зависимости) и  $b$  (угловой коэффициент линейной зависимости). Определен отрезок, отсекаемый калибровочной прямой на оси ординат (величина поглощения), который не должен превышать 2% поглощения, соответствующего сумме флавоноидов в настойке. О характере линейной связи между переменными судили также по величине коэффициента корреляции ( $r$ ) [25].

*Правильность* исследовали на растворах СО трех различных концентраций. Содержание апигенина в них составляло от 15 до 100% от содержания суммы флавоноидов в настойке каждой концентрации. Рассчитаны среднее содержание апигенина, стандартное отклонение каждой проверенной концентрации и относительное стандартное отклонение. Определена *открываемость* вещества в растворе через отношение обнаруженной концентрации к заложенной.

*Прецизионность* методики подтверждалась степенью близости результатов для серии измерений. С этой целью изучали *сходимость* результатов на примере шести испытуемых растворов настойки в одних и тех же условиях в течение небольшого промежутка времени. Рассчитывали среднее содержание суммы флавоноидов, стандартное отклонение и относительное стандартное отклонение этих измерений.

*Стабильность растворов* исследовали измерением поглощения в УФ-свете трех образцов раствора сразу после приготовления и через 15, 30, 45 и 60 мин.

Для данной методики определен и рассчитан *коэффициент удельного поглощения апигенина* по формуле:

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A}{C},$$

где  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  – коэффициент удельного поглощения апигенина;  $A$  – оптическая плотность раствора испытуемого образца;  $C$  – концентрация раствора испытуемого образца.

Определение проводили измерением оптической плотности серии растворов с различным содержанием СО в спирте этиловом 70%.

Формула для расчета содержания суммы флавоноидов в настойке с использованием коэффициента удельного поглощения:

$$X = \frac{A_1 \times 25 \times 25}{E_{1\text{см}}^{1\%} \times 1 \times 5},$$

где  $X$  – содержание суммы флавоноидов в настойке в пересчете на апигенин, %;  $A_1$  – оптическая плотность раствора испытуемого образца;  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  – коэффициент удельного поглощения апигенина.

### Обсуждение результатов

При определении содержания суммы флавоноидов в пересчете на апигенин методом дифференциальной спектрофотометрии снимали спектры поглощения растворов извлечения из сырья и настойки с добавлением алюминия хлорида (рис. 1).

На основании анализа экспериментальных данных установлено, что максимумы поглощения растворов извлечения и настойки в присутствии алюминия хлорида близки к максимуму поглощения раствора апигенина с той же добавкой. Рекомендуемая аналитическая длина волны для определения суммы флавоноидов – 393 нм.

Результаты определения содержания суммы флавоноидов в надземной части касатика молочно-белого (в пересчете на воздушно-сухое сырье) и настойке представлены в таблицах 1 и 2 соответственно.

Среднее значение содержания суммы флавоноидов в надземной части касатика молочно-белого в пересчете на апигенин и воздушно-сухое сырье составило 2.42%, в настойке – 0.17%.

При определении значений оптической плотности пяти растворов с различным содержанием СО апигенина наблюдалась *линейная зависимость* величины абсорбции в УФ-свете от его концентрации в растворе (рис. 2).

Отрезок, отсекаемый калибровочной прямой на оси ординат (величина поглощения), составляет 0.015% от значения абсорбции, соответствующей содержанию суммы флавоноидов в настойке, что менее допустимых 2%.

*Правильность* методики исследовали, используя три раствора СО апигенина, с концентрациями, имеющими величину абсорбции в диапазоне отклика сигнала раствора испытуемого образца настойки. Среднее содержание для заложенных концентраций (0.000212, 0.000530 и 0.001060%) составило 0.000213, 0.000528 и 0.001070% соответственно (стандартное отклонение каждой проверенной концентрации – 0.000002, 0.000005 и 0.000005, относительное стандартное отклонение – 0.80, 0.97 и 0.54%, что составляет менее 1.0%). Таким образом, полученные результаты весьма близки к значениям заложенных концентраций. Критерием правильности также является открываемость, которая для данных концентраций составила от 99.62 до 100.94%.

*Прецизионность* характеризует величину доверительного интервала при последовательном, например, многократном измерении одного образца. Мы рассматривали этот показатель при выполнении методики одним химиком на одном приборе (сходимость). В результате анализа 6 образцов настойки установлена *сходимость* полученных данных: стандартное отклонение составило 0.0029, относительное стандартное отклонение – 1.82% относительно среднего значения суммы флавоноидов в образцах. Многократное измерение одного и того же раствора настойки позволило доказать прецизионность методики.

*Стабильность растворов* в процессе количественного определения исследовали с интервалом 15 мин в течение 1 ч. Установлено, что растворы в присутствии реактива алюминия хлорида стабильны в указанном промежутке времени. В связи с этим рекомендуется проводить измерения через 30 мин после приготовления растворов.

Значения параметров верификации методики представлены в таблице 3.

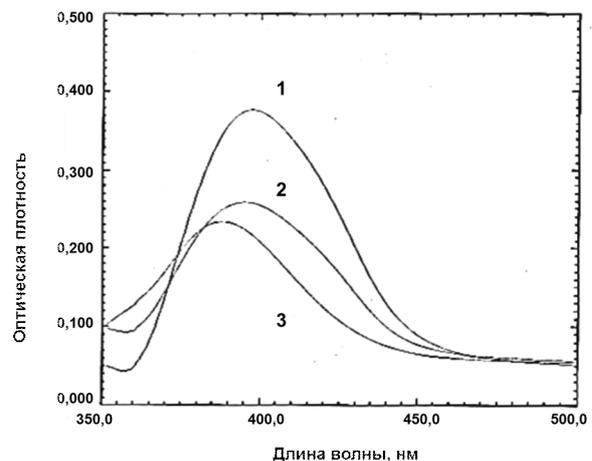


Рис. 1. Спектры поглощения растворов извлечения из сырья (1), настойки (2) и раствора СО апигенина (3)

Таблица 1. Результаты количественного определения суммы флавоноидов в надземной части касатика молочно-белого

Наименование образца	Аналитическая длина волны, нм	Оптическая плотность	Содержание флавоноидов в воздушно-сухом сырье, %	Отклонения от среднего значения, %
СО апигенина	393	0.228	–	–
Образец 1	393	0.258	2.42	0.00
Образец 2	393	0.265	2.48	2.48
Образец 3	393	0.285	2.36	-2.48
Среднее значение, %			2.42	

Таблица 2. Результаты количественного определения суммы флавоноидов в настойке из надземной части касатика молочно-белого

Наименование образца	Аналитическая длина волны, нм	Оптическая плотность	Содержание флавоноидов в настойке, %	Отклонения от среднего значения, %
СО апигенина	393	0.228	–	–
Образец 1	393	0.370	0.172	0.00
Образец 2	393	0.365	0.170	-1.23
Образец 3	393	0.376	0.175	3.09
Среднее значение, %			0.172	

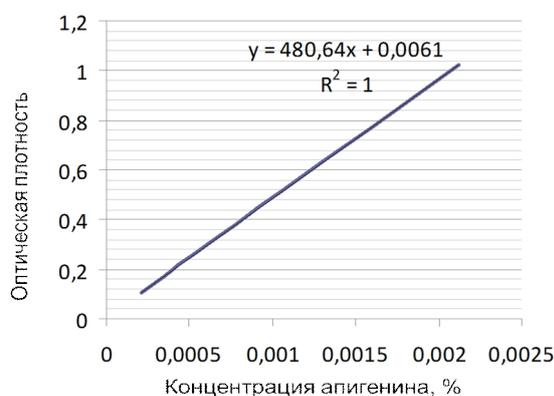


Рис. 2. График зависимости оптической плотности раствора апигенина от его концентрации (измерение при длине волны 393 нм)

Таблица 3. Характеристики параметров верификации методики количественного определения суммы флавоноидов в настойке касатика молочно-белого

Характеристики	Параметры верификации			
	Специфичность	Линейность	Правильность	Прецизионность (сходимость)
Среднее значение, %	0.17	–	0.000213 0.000528 0.001070	–
Стандартное отклонение, %	0.002	–	0.000002 0.000005 0.000005	0.0029
Относительное стандартное отклонение, %	1.3	–	0.80 0.97 0.54	1.82
Коэффициент корреляции	–	0.999	–	–
Открываемость, %	–	–	100.47 99.62 100.94	–

### Выводы

1. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в надземной части касатика молочно-белого и настойки на ее основе методом дифференциальной спектрофотометрии после реакции комплексообразования с раствором алюминия хлорида в пересчете на апигенин.

2. Методика дифференциальной спектрофотометрии для определения суммы флавоноидов в настойке касатика молочно-белого проверена по показателям специфичность, линейность, правильность, прецизионность и сходимость.

3. В результате анализа данных верификации методику количественного определения суммы флавоноидов можно признать приемлемой для стандартизации сырья и настойки касатика молочно-белого.

### Список литературы

1. *Iris lactea* Pall. – The Plant List. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-322026> (дата обращения – 05.06.2017).
2. Касатик молочно-белый – *Iris lactea*. Плантариум. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.plantarium.ru/page/view/item/20763.html> (дата обращения – 05.06.2017).
3. Алексеева Н.Б. Род *Iris* L. (Iridaceae) в России // *Turczaninowia*. 2008. Т. 11. №2. С. 5–68.
4. Пряхина Н.И. Фитохимическое изучение касатика молочно-белого *Iris lactea* Pall.: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Л., 1984. 23 с.
5. Luzhanin V.G., Whaley A.K. Development of embinin isolation technology from *Iris lactea* and the research of its pharmacological activity // *Reviews of clinical pharmacology and drug therapy*. 2016. Vol. 14S. P. 42.
6. Whaley A.K., Ebrahim W., El-Neketi M., Ancheeva E.U., Özkaya F.C., Pryakhina N.I., Sipkina N.U., Luzhanin V.G., Liu Z., Proksch P. New acetylated flavone C-glycosides from *Iris lactea* // *Tetrahedron. Lett.* 2017. Vol. 58. N22. Pp. 2171–2173.
7. Meng Y., Qin M., Qi B., Xie G. Four new C-glycosylflavones from the leaves of *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz. // *Phytochemistry Letters*. 2017. Vol. 22. Pp. 33–38.
8. Shen W.J., Qin M.J., Shu P., Zhang C. F. Two new C-glycosylflavones from the leaves of *Iris lactea* var. *chinensis* // *Chinese Chemical Letters*. 2008. Vol. 19. N7. Pp. 821–824.
9. Lv H., Wang H., He Y., Ding C., Wang X., Suo Y. Separation and purification of four oligostilbenes from *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz by high-speed counter-current chromatography // *Journal of Chromatography B*. 2015. Vol. 988. Pp. 127–134.
10. Lv H., Zhou W., Wang X., Wang Z., Suo Y., Wang H. Extraction and separation of vitisin d, ampelopsin b and cis-vitisin a from *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz by alkaline extraction-acid precipitation and high-speed counter-current chromatography // *Journal of Chromatographic Science*. 2016. Vol. 54. N5. Pp. 744–751.
11. Lv H., Yuan Z., Wang X., Wang Z., Suo Y., Wang H. Rapid separation of three proanthocyanidin dimers from *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz by high-speed counter-current chromatography with continuous sample load and double-pump balancing mode // *Phytochemical Analysis*. 2015. Vol. 26. N6. Pp. 444–453.
12. Ланина Н.Е., Минина С.А., Пряхина Н.И. Групповой компонентный состав настойки надземной части *Iris lactea* Pall. и шрота после ее получения // *Растительные ресурсы*. 2003. Т. 39. №2. С. 99–105.
13. Тихомирова Л.И., Базарнова Н.Г., Микушина И.В., Долганова З.В. Фармаколога-биохимическое обоснование практического использования некоторых представителей рода *Iris* L. (обзор) // *Химия растительного сырья*. 2015. №3. С. 25–34.
14. Баринев Е.А. Изучение иммуномодулирующих и адаптогенных эффектов СЭКМБ при гипоксии и гипертермии: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. СПб., 1999. 20 с.
15. Патент 2123349 (РФ). Способ получения комплекса, обладающего противовоспалительным, иммуномодулирующим и антигипоксическим действием / С.А. Минина, Т.В. Астахова, Н.И. Пряхина, Л.В. Пастушенков, Е.Е. Лесиовская, Т.И. Мельникова, Н.Ю. Фролова, В.А. Вавилова / 20.12.1998.
16. Мельникова Т.И. Фармакологическое изучение суммарного экстракта касатика молочно-белого: автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 1994. 15 с.
17. Гамаль Р. Технология и анализ таблетированного сухого экстракта касатика молочно-белого (*Iris lactea* Pall.): автореф. дисс. ... канд. фарм. наук. СПб., 1996. 21 с.
18. Minina S.A., Skhela G.R.I. Abu. Technology of dry extract production from the above-ground part of milk-white iris herbs (*Iris lactea* Pall.) // *Pharmaceutical chemistry journal*. 1999. Vol. 3. N4. Pp. 211–213.
19. Минина С.А., Астахова Т.В., Пряхина Н.И., Абу Схела Г.Р. Выбор состава и разработка технологии получения таблеток экстракта касатика молочно-белого // *Химико-фармацевтический журнал*. 2001. Т. 35. С. 24–26.
20. Минина С.А., Пряхина Н.И., Чемесова И.И., Чижиков Д.В. Детский лекарственный препарат с экстрактом касатика молочно-белого // *Химико-фармацевтический журнал*. 2008. Т. 42. №1. С. 39–41.
21. Минина С.А., Абу Схела Г.Р., Астахова Т.В., Пряхина Н.И., Зенкевич И.Г., Косман В.М. Технология получения сухого экстракта из надземной части касатика молочно-белого // *Химико-фармацевтический журнал*. 1999. №4 (33). С. 40–42.
22. Астахова Т.В., Пряхина Н.И., Ланина Н.Е., Закигалкина М.В., Чемесова И.И. Разработка метода стандартизации сиропа с экстрактом касатика молочно-белого // *Актуальные проблемы фармацевтической науки и образования*. Пермь, 2000. С. 170–171.
23. Ланина Н. Е. Разработка технологии настойки из травы касатика молочно-белого и ее стандартизация: автореф. дисс. ... канд. фарм. наук. СПб., 2003. 23 с.

24. Aroyan M.V., Kaukhova I.E., Novikova E.K., Goncharova S.B. Determination of merchandising parameters of *Iris lactea* crude sample // Reviews of clinical pharmacology and drug therapy. 2017. Vol. 15S. P. 50.
25. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII издание. Т. 1. Статистическая обработка результатов химического эксперимента. М., 2015. С. 235–265.

Поступило в редакцию 29 октября 2017 г.

После переработки 24 декабря 2017 г.

**Для цитирования:** Загорулько Е.Ю., Ожигова М.Г., Чемсова И.И., Лужанин В.Г. Количественное определение суммы флавоноидов в надземной части и настойке *Iris lactea* (*Iridaceae*) // Химия растительного сырья. 2018. №2. С. 105–113. DOI: 10.14258/jcrpm.2018023368

Zagorulko E.Yu.\* , Ozhigova M.G., Chemesova I.I., Luzhanin V.G. QUANTIFICATION OF TOTAL FLAVONOID CONTENT IN THE AERIAL PART AND IN THE TINCTURE OF *IRIS LACTEA* (*IRIDACEAE*)

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of Russia, ul. Professora Popova, 14, St. Petersburg, 197376 (Russia), e-mail: elena.zagorulko@pharminnotech.com

*Iris lactea* Pall. of *Iridaceae* Juss. family contains a complex of biologically active substances with antiviral, immunomodulatory, adaptogenic, antihypoxic, cardiostimulatory and antitumor properties. Thus, the herbal substance and dosage forms on its basis are promising in medicine.

The main groups of active substances in the aerial part of *Iris Lactea* are flavonoids and xanthenes. There is a known method of chromatophotometric quantification of total xanthone content calculated as alpisarin. Meanwhile, the development of a convenient method of quantification of total flavonoid content in the aerial part of *Iris lactea* and drugs on its basis is currently important.

The aims of this work are to develop a method of quantification of total flavonoid content calculated as apigenin in the aerial part of *Iris lactea* and in its tincture, using the differential spectrophotometry method according to the complexation reaction with aluminium chloride solution; to prove reliability and accuracy of this method for the analysis of *Iris Lactea* tincture in terms of the following factors: specificity, linearity, validity, precision, and repeatability.

As a result of verification data analysis, the developed method of quantification of total flavonoid content calculated as apigenin can be admitted for standardization of *Iris Lactea* herbal substance and tincture.

**Keywords:** *Iris lactea*, aerial part, tincture, apigenin, differential spectrophotometry.

---

\* Corresponding author.

## References

1. *Iris lactea* Pall. – The Plant List. [Electronic resource]. URL: <http://www.theplantlist.org/tp11.1/record/kew-322026> (accessed date – 05.06.2017).
2. Kasatik molochno-belyi – *Iris lactea*. Plantarium. [Iris milky-white – *Iris lactea*. Plantarium]. [Electronic resource]. URL: <http://www.plantarium.ru/page/view/item/20763.html> (accessed date – 05.06.2017). (in Russ.).
3. Alekseeva N.B. *Turczaninowia*, 2008, vol. 11, no. 2, pp. 5–68.
4. Priakhina N.I. *Fitokhimicheskoe izuchenie kasatika molochno-belogo: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk*. [Phytochemical study of iris milky white: dissertation of the candidate of pharmaceutical sciences]. Leningrad, 1984, 25 p. (in Russ.).
5. Luzhanin V.G., Whaley A.K. *Reviews of clinical pharmacology and drug therapy*, 2016, vol. 14S, p. 42.
6. Whaley A.K., Ebrahim W., El-Neketi M., Ancheeva E.U., Özkaya F.C., Pryakhina N.I., Sipkina N.U., Luzhanin V.G., Liu Z., Proksch P. *Tetrahedron. Lett.*, 2017, vol. 58, no. 22, pp. 2171–2173.
7. Meng Y., Qin M., Qi B., Xie G. *Phytochem. Lett.*, 2017, vol. 22, pp. 33–38.
8. Shen W.J., Qin M.J., Shu P., Zhang C. F. *Chin. Chem. Lett.*, 2008, vol. 19, no. 7, pp. 821–824.
9. Lv H., Wang H., He Y., Ding C., Wang X., Suo Y. *J. of Chrom. B*, 2015, vol. 988, pp. 127–134.
10. Lv H., Zhou W., Wang X., Wang Z., Suo Y., Wang H. *J. of Chrom. Sci.*, 2016, vol. 54, no 5, pp. 744–751.
11. Lv H., Yuan Z., Wang X., Wang Z., Suo Y., Wang H. *Phytochem. Anal.*, 2015, vol. 26, no. 6, pp. 444–453.
12. Lanina N.E., Minina S.A., Priakhina N.I. *Rastitel'nye resursy*, 2003, no. 3, pp. 99–105. (in Russ.).
13. Tikhomirova L.I., Bazarnova N.G., Mikushina I.V., Dolganova Z.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2015, no. 3, pp. 25–34. (in Russ.).
14. Barinov E.A. *Izuchenie immunomoduliruyushchih i adaptogennyh ehffektov SEHKMB pri gipoksii i gipertermii: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk* [Study of immunomodulating and adaptogenic effects of SSCMB in hypoxia and hyperthermia: dissertation of the candidate of pharmaceutical sciences]. St. Petersburg, 1999, 20 p. (in Russ.).
15. Patent 2123349 (RU). 1998. (in Russ.).
16. Mel'nikova T.I. *Farmakologicheskoe izuchenie summarnogo ekstrakta kasatika molochno-belogo : avtoref. dis. ... kand. biol. nauk*. [Pharmacological study of the total extract of iris milky white: dissertation of the candidate of biological sciences]. St. Petersburg, 1994, 20 p. (in Russ.).
17. Gamal R. *Tekhnologiya i analiz tabletirovannogo suhogo ehkstrakta kasatika molochno-belogo: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk*. [Technology and analysis of the tablet dry extract of milky white tangy (*Iris lactea* Pall.): dissertation of the candidate of pharmaceutical sciences]. St. Petersburg, 1996, 21 p. (in Russ.).
18. Minina S.A., Skhela G.R.I. Abu. *Pharm. Chem. J.*, 1999, vol. 3, no 4, pp. 211–213.
19. Minina S.A., Astakhova T.V., Priakhina N.I., Abu Skhela G. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 2001, vol. 35, pp. 24–26. (in Russ.).
20. Minina S.A., Pryakhina N.I., Chemesova I.I., Chizhikov D.V. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 2008, vol. 42, no. 1, pp. 37–39. (in Russ.).
21. Minina S.A., Abu Skhela G.R., Astakhova T.V., Priakhina N.I., Zenkevich I.G., Kosman V.M. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 1999, no. 4 (33), pp. 40–42. (in Russ.).
22. Astakhova T.V., Priakhina N.I., Lanina N.E., Zazhigalkina M.V., Chemesova I.I. *Aktual'nye problem farmatsevticheskoi nauki i obrazovaniia*. [Actual problems of pharmaceutical science and education]. Perm, 2000, pp. 170–171. (in Russ.).
23. Lanina N.Y. *Razrabotka tekhnologii nastojki iz travy kasatika molochno-belogo i eyo standartizatsiya: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk*. [Development of technology of tincture from the herb of milky-white tang and its standardization: dissertation of the candidate of pharmaceutical sciences]. St. Petersburg, 2003, 23 p. (in Russ.).
24. Aroyan M.V., Kaukhova I.E., Novikova E.K., Goncharova S.B. *Reviews of clinical pharmacology and drug therapy*, 2017, vol. 15S, pp. 50.
25. *Gosudarstvennaia farmakopeia Rossiiskoi Federatsii, XIII izdanie. T. 1. Statisticheskaiia obrabotka rezul'tatov khimicheskogo eksperimenta*. [State Pharmacopoeia of the XIII edition. Vol. 1. Statistical processing of the results of a chemical experiment]. Moscow, 2015, pp. 235–265. (in Russ.)

Received October 29, 2017

Revised December 24, 2017

**For citing:** Zagorulko E.Yu., Ozhigova M.G., Chemesova I.I., Luzhanin V.G. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2018, no. 2, pp. 105–113. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2018023368

