

УДК 582.736:547.918:581.19:633.875

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ КСАНТОНОВ В ПЕРЕСЧЕТЕ НА МАНГИФЕРИН В НАДЗЕМНЫХ ОРГАНАХ ВИДОВ РОДА КОПЕЕЧНИК (*HEDYSARUM* L.) МЕТОДОМ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ*

© Д.Р. Имачуева^{1,2**}, Ф.К. Серебряная^{1,3}, И.Н. Зилфикаров⁴

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета, пр. Калинина, 11, Пятигорск, 357532 (Россия), e-mail: djakag01@gmail.com

² Дагестанский государственный медицинский университет, пр. Ленина, 1, Махачкала, 360000 (Россия)

³ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Профессора Попова, 2, Санкт-Петербург, 197376 (Россия)

⁴ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, ул. Грина, 7/1, Москва, 117216 (Россия)

Получение противовирусных и антибактериальных средств растительного происхождения является перспективной задачей отечественной фармации. В связи с этим представляет интерес изучение видов рода копеечник, а именно *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., а также особенностей произрастания, химического состава и известных фармакологических свойств. Это позволит обосновать направления их рационального использования, а также создания на основе лекарственного растительного сырья новых фитопрепаратов противовирусного действия.

В рамках комплексных фармакогностических исследований трех видов *Hedysarum* L. нами разработана методика выделения и количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин методом УФ-спектрофотометрии. Методика учитывает основные физико-химические свойства ксантонов, характеризуются воспроизводимостью, высокой точностью, простотой исполнения, позволяют проводить как скрининговую оценку различных сырьевых объектов, содержащих производные мангиферина, так и стандартизацию заготовленного лекарственного растительного сырья копеечника. Разработанные методики апробированы на надземных органах видов рода *Hedysarum* L., собранных и высушенных с учетом правил и требований заготовки лекарственного сырья. В результате установлено, что наибольшим количественным содержанием суммы ксантонов в пересчете на мангиферин отличается трава *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. (0,624%). Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования надземной части копеечника кавказского, как дополнительного источника мангиферина.

Проведена валидация методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземной части *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.; на основании полученных данных установлено, что предложенная методика является высокочувствительной, воспроизводимой и пригодной для использования.

Ключевые слова: *Hedysarum caucasicum*, *Hedysarum grandiflorum*, *Hedysarum daghestanicum*, сумма ксантонов, мангиферин, ТСХ, УФ-спектрофотометрия, валидация.

Введение

Имачуева Джавгарат Руслановна – аспирант,
e-mail: djakag01@gmail.com

Серебряная Фатима Казбековна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, научный сотрудник, e-mail: f.k.serebryanaya@pmedpharm.ru

Зилфикаров Ифрат Назимович – доктор фармацевтических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела фитохимии и стандартизации,
e-mail: dagfarm@mail.ru

Род копеечник (*Hedysarum* L.) относится к семейству бобовые (*Fabaceae*). В настоящее время род насчитывает около 285 видов, многие из которых широко распространены на Северном Кавказе и территории Европейской части России [1, 2]. Представители рода широко изучаются как в отечественной [3–7], так и зарубежной медицине

* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.2020034553s

** Автор, с которым следует вести переписку.

[8–13]. У видов рода *Hedysarum* L. в качестве основной группы биологически активных веществ являются ксантоны, а именно мангиферин [14, 15]. Мангиферин (2-С-β-D-глюкопиранозил-1,3,6,7-тетраоксиксантон) относится к группе собственно ксантонов, является наиболее широко распространенным представителем С-гликозидов и обладает противовирусными и противобактериальными свойствами [16–19]. Из копеечника желтеющего (*Hedysarum flavescens* RGL. et Sohmah.) и альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) отечественными учеными разработан противовирусный препарат «Алпизарин», действующим веществом которого является мангиферин, который обладает противовирусной активностью в отношении ДНК-содержащих вирусов: вируса простого герпеса, вирус опоясывающего лишая, цитомегаловирусов [20–22].

На данный момент проблема хронических рецидивирующих вирусных заболеваний очень актуальна. Согласно данным ВОЗ, около 67% населения Земли страдают от заболеваний различных органов и систем, вызванных вирусом простого герпеса [23]. Таким образом, перспективным является изучение видов рода *Hedysarum* L., а именно *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., произрастающих на территории Северного Кавказа, как дополнительных сырьевых источников мангиферина.

Цель настоящего исследования – разработка методики определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин методом УФ-спектрофотометрии в надземной части видов рода копеечник, таких как копеечник кавказский, копеечник дагестанский и копеечник крупноцветковый, произрастающих на территории Северного Кавказа, и валидация разработанной методики.

Экспериментальная часть

На протяжении 2017–2020 гг. проводятся эколого-биологические и интродукционные исследования трех изучаемых видов на территории ФГБУН Горного ботанического сада Дагестанского научного центра РАН (Цудахарская экспериментальная база) и Ботанического сада Пятигорского медико-фармацевтического института.

Объектом исследования служили надземные части следующих видов рода копеечник: 1. *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. (Кабардино-Балкария, Джилысу, открытые альпийские луга, фаза цветения, 27-28.07.17); 2. *Hedysarum grandiflorum* Pall. (Волгоградская область, с. Кондраши, фаза цветения, 15.05.19); 3. *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss. (республика Дагестан, Буйнакский район, с. Чиркей, фаза цветения, 10.05.19).

Собранное сырье было высушено на воздухе без доступа прямых солнечных лучей. Качественное обнаружение мангиферина проводили методом хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) с использованием хроматографических пластинок «Sorbfil ПТСХ-АФ-А» 10×15 см и 10×10 см. Для хроматографирования использовали системы различного состава: *n*-бутанол – уксусная кислота – вода (4 : 1 : 5); хлороформ – метанол – вода (13 : 7 : 2); 15% уксусная кислота; 20% уксусная кислота. Пластины проявляли опрыскиванием следующими реактивами: 1% спиртовой раствор алюминия хлорида, 2% раствор железа (III) хлорида, а также парами аммиака и UV-облучением (люминесцентная лампа УФ-А). В качестве стандартного образца использовали мангиферин фирмы «Sigma-Aldrich» и таблетки ЗАО «Фармцентр ВИЛАР» алпизарина 100 мг.

Разработка методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземной части исследуемых видов осуществлялась с использованием методов УФ-спектрофотометрии. В качестве стандартного образца использовали мангиферин фирмы «Sigma-Aldrich», регистрацию электронных спектров проводили на спектрофотометре СФ-2000, ЗАО «ОКБ СПЕКТР», Санкт-Петербург, Россия. Для статистической обработки валидационных результатов использовали пакет прикладных программ «Microsoft Excel 2010».

Обсуждение результатов

Результаты исследований методом ТСХ водно-спиртового извлечения видов *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss. в сравнении со стандартными образцами свидетельствуют о том, что в данных видах присутствует ксантоновый гликозид – мангиферин (табл. 1).

Содержание в объектах исследования суммы ксантонов в пересчете на мангиферин рассчитывали двумя способами, используя значение оптической плотности раствора стандартного образца мангиферина и величину удельного показателя поглощения мангиферина в аналогичных условиях.

Таблица 1. Результаты исследования мангиферина методом ТСХ в различных системах растворителей

Значение Rf	Цвет хроматографической области									
	<i>H. caucasicum</i> M.Bieb.		<i>H. grandiflorum</i> Pall.		<i>H. daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.		СО Мангиферина		Алпизарин	
	До проявления	После проявления	До проявления	После проявления	До проявления	После проявления	До проявления	После проявления	До проявления	После проявления
Система 1: <i>n</i> -бутанол – уксусная кислота – вода (4 : 1 : 5)										
0.51	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый
Система 2: Хлороформ – метанол – вода (13 : 7 : 2)										
0.56	Бледно-желтый	Ярко-зеленый	Бледно-желтый	Ярко-зеленый	Бледно-желтый	Ярко-зеленый	Бледно-желтый	Ярко-зеленый	Бледно-желтый	Ярко-зеленый
Система 3: 15% уксусная кислота										
0.38	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Оранжевый

Определение величины удельного показателя поглощения мангиферина. Точную навеску СО мангиферина (около 0.01 г) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 20 мл спирта этилового 70%, перемешивали до полного растворения мангиферина и доводили объем раствора в колбе до метки. Из полученного раствора готовили следующие разведения. Аликвоты (табл. 2) переносили в мерные колбы вместимостью 25 мл и доводили объем до метки. В полученных растворах измеряли величину оптической плотности при длине волны 365 нм. В качестве раствора сравнения использовали спирт этиловый 70%. В таблице 2 приведены результаты эксперимента.

Полученные результаты статистически обработаны, относительная погрешность определения составила 1.4%, что позволяет сделать вывод о достоверности полученных результатов.

Методика анализа суммы ксантонов в пересчете на мангиферин. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера 2 мм. Около 1.0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 40 мл спирта этилового 70% и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Охлаждают до комнатной температуры и выдерживают в течение 30 мин. Водно-спиртовое извлечение декантируют и фильтруют через вату в колбу для отгонки вместимостью 250 мл. Экстракцию повторяют 2 раза. Полученное водно-спиртовое извлечение упаривают на роторном испарителе под вакуумом при температуре 80–85 °С до водного остатка объемом около 50 мл, который, не охлаждая, количественно с помощью 50 мл воды очищенной переносят в делительную воронку вместимостью 250 мл и охлаждают до комнатной температуры. Содержимое делительной воронки обрабатывают хлороформом 3 раза порциями по 30 мл. Хлороформные извлечения отбрасывают.

Водную фазу обрабатывают этилацетатом 4 раза порциями по 20 мл. Этилацетатные извлечения последовательно фильтруют через фильтр «красная лента» с 2 г натрия сульфата безводного в колбу для отгонки вместимостью 250 мл, фильтр ополаскивают 10 мл этилацетата. Извлечение упаривают на роторном испарителе под вакуумом при температуре 80–85 °С до полного удаления органического растворителя. Остаток смешивают с 30 мл спирта этилового 70% и количественно с помощью того же спирта переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл. Объем раствора доводят до метки 70% спиртом этиловым (раствор А).

Таблица 2. Результаты определения величины удельного показателя поглощения мангиферина (точная навеска СО 0.0101 г)

Аликвота, мл	Концентрация мангиферина, % × 10 ⁻⁴	Величина оптической плотности, <i>A</i>	Рассчитанное значение удельного показателя поглощения, <i>A</i> _{1 см^{1%}}	Метрологические характеристики
0.25	4	0.1278	319.5	$S_x = 1.8433$
0.50	8	0.2603	325.4	$\Delta X = S_x \times t_{0.95} =$
0.75	12	0.3945	328.8	$1.8433 \times 2.45 = 4.52$
1.00	16	0.5178	325.7	$\Delta X = 325.1 \pm 4.52$
1.25	20	0.6427	321.4	$\varepsilon = 1.4\%$
1.50	24	0.7718	321.5	
1.75	28	0.9338	333.5	
			$\bar{A}_{1 \text{ см}^{1\%}} = 325.1$	

3.0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 0.5 мл уксусной кислоты разведенной 30%, объем раствора доводят спиртом этиловым 70% до метки и перемешивают (раствор Б). Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 365 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали спирт этиловый 70%.

Содержание в сырье суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в сырье (X, %) рассчитывали по формуле

$$X = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a_x \cdot 3 \cdot (100 - w)},$$

где A_x – значение оптической плотности в испытуемом растворе; $A_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель мангиферина, 325.1; a_x – навеска сырья, г; w – влажность сырья, %.

Количественное содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин рассчитывали с использованием величины оптической плотности стандартного образца мангиферина (I) и величины удельного показателя поглощения мангиферина (II), установленной нами экспериментально.

В таблице 3 приведены результаты количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в сырье копеечника кавказского.

В результате комплексных хроматографических исследований трех видов рода копеечник выявлено, что максимальное содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин составляет 0.624% и наблюдается в траве копеечника кавказского (табл. 4).

Валидационная оценка методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземной части копеечника кавказского проводилась с использованием стандартного образца (I) и удельного показателя поглощения (II) мангиферина и проводили по следующим показателям: специфичность, линейность, точность и воспроизводимость [24].

Специфичность методики по соответствию максимумов поглощения стандартного образца мангиферина и подтверждается спектральными характеристиками копеечника кавказского (рис.).

Линейность методики проводили с помощью оценки градуировочного графика (электронное приложение). Образцы готовили путем изменения аликвоты раствора А (от 2.0 до 4.0 мл), концентрация суммы ксантонов на мангиферин составила: I – от 0.0000565 до 0.0002160 г/мл и II – от 0.0000647 до 0.0002150 г/мл. График зависимости имеет линейный характер в области концентрации суммы ксантонов в пересчете на мангиферин и описывается уравнением (табл. 6). Для оценки точности методики готовили извлечение с содержанием суммы ксантонов на верхнем пределе линейности методики 0.0002150 мг/мл, полученном из навески 1.0 г сырья и аликвоты 3 мл. Результаты представлены в таблице 5.

Для определения воспроизводимости методики определяли сумму ксантонов в пересчете на мангиферин в шести разных навесках сырья. Как следует из представленных результатов (табл. 3), относительная погрешность для двух методик является приемлемой для лекарственного сырья (табл. 6).

Таблица 3. Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземных частях копеечника кавказского ($a_0 = 0.0101$ г; $A_0 = 0.5178$; $A_{1\text{см}}^{1\%} = 325,1$; $w = 7.23\%$)

Масса навески, г	Значение оптической плотности, A_x ($\lambda = 364$ нм)	Содержание суммы ксантонов, % (рассчитано по A_0)		Содержание суммы ксантонов, % (рассчитано по $A_{1\text{см}}^{1\%}$)		Метрологические характеристики	
		I	II	I	II	I	II
1.0015	0.4621	0.640	0.637	$\bar{x} = 0.629$	$\bar{x} = 0.624$		
1.0018	0.4672	0.647	0.644	$S_{\bar{x}} = 0.0830$	$S_{\bar{x}} = 0.0830$		
1.0100	0.4671	0.642	0.639	$\Delta x = 0.021$	$\Delta x = 0.021$		
0.9989	0.4329	0.601	0.599	$\bar{x} \pm \Delta x = 0.629 \pm 0.021$	$\bar{x} \pm \Delta x = 0.624 \pm 0.021$		
0.9996	0.4358	0.605	0.602	$\varepsilon = 3.39\%$	$\varepsilon = 3.42\%$		
0.9898	0.4504	0.632	0.629				

Таблица 4. Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземной части видов рода копеечник по величине удельного показателя поглощения мангиферина

Вид	Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин, %
<i>Hedysarum caucasicum</i> M.Bieb.	0.624 ± 0.021
<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	0.596 ± 0.024
<i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.	0.562 ± 0.011

УФ-спектры растворов: 1 – СО мангиферина; 2 – извлечения из надземной части *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.

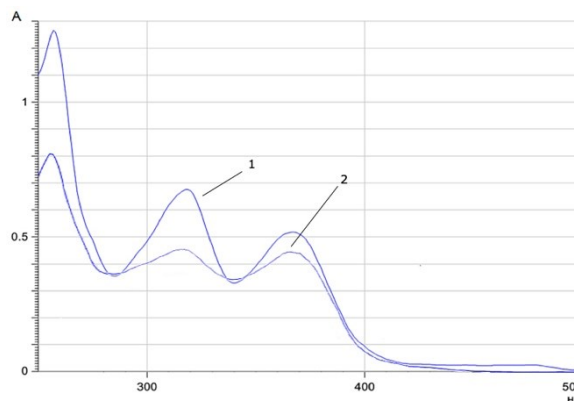


Таблица 5. Оценка точности методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в сырье копеечника кавказского (исходное содержание 0.0002150 мг/мл (I), 0.0002160 мг/мл (II))

Разведение модельного раствора	Расчетное содержание суммы ксантонов, мг/мл		Найденное содержание суммы ксантонов, мг/мл		Открываемость, R, %		Метрологические характеристики	
	I	II	I	II	I	II	I	II
1 : 0.5	0.0001440	0.0001433	0.0001387	0.0001473	96.32	102.79	$\bar{x}=100.43$ $SD = 3.0592$ $RSD = 3.05\%$	$\bar{x}=100.85$ $SD=2.3205$ $RSD = 2.30\%$
			0.0001467	0.0001498	101.88	104.54		
			0.0001520	0.0001406	105.56	98.12		
1 : 1	0.0001080	0.0001075	0.0001120	0.0001051	103.70	97.77	3.05%	
			0.0001067	0.0001089	98.80	101.30		
			0.0001093	0.0001075	101.20	100.00		
1 : 2	0.0000720	0.0000717	0.0000707	0.0000739	98.19	103.07		
			0.0000727	0.0000712	100.97	99.30		
			0.0000700	0.0000718	97.22	100.14		
					100.43	100.85		

Таблица 6. Валидационные характеристики методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в сырье копеечника кавказского

Валидационная характеристика		Сумма ксантонов (в пересчете на мангиферин)	
		I	II
Специфичность		Специфична	Специфична
Линейность	Уравнение регрессии	$y=0.035 \times x + 0.001$	$y=0.035 \times x + 0.008$
	Коэффициент корреляции	$r = 0.9983$	$r = 0.998$
Точность		$RSD=3.05\%$	$RSD=2.30\%$
Воспроизводимость		$RSD=3.39\%$	$RSD=3.42\%$

Результаты валидационной оценки методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в сырье копеечника кавказского приведены в таблице 6.

Из данных результатов следует, что предложенная методика количественного определения суммы ксантонов на мангиферин в траве копеечника кавказского отвечает параметрам валидации и может быть использована для оценки доброкачественности лекарственного растительного сырья «Копеечника кавказского трава» как дополнительного источника мангиферина.

Выводы

Проведено исследование трех видов *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Voiss. и обнаружено присутствие ксантонового гликозида мангиферина методом ТСХ. Количественное содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин методом УФ-спектрофотометрии установлено во всех трех видах, при этом наибольшим содержанием отличается трава *Hedysarum caucasicum* M.Bieb (0.624%). Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования надземной части копеечника кавказского, что позволяет рассматривать данный вид в

качестве дополнительного сырьевого источника мангиферина. Разработана методика количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземной части *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. методом дифференциальной УФ-спектрофотометрии с использованием величины оптической плотности стандартного образца мангиферина (I) и величины удельного показателя поглощения мангиферина (II), установленной нами экспериментально. Проведена валидация методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземной части *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.; на основании полученных данных установлено, что предложенная методика является высокочувствительной, воспроизводимой и пригодна для использования в аналитической лаборатории.

Список литературы

1. Имачуева Д.Р., Серебряная Ф.К. Современное состояние изученности растений рода копеечник (*Hedysarum* L.) флоры Кавказа // Фармация и фармакология. 2016. Т. 4(6). С. 4–32.
2. Федорова Ю.С., Кульпин П.В., Суслов Н.И., Мелентьева Ю.В., Косенко К.К. Изучение кардиопротекторных свойств биологически активных веществ *Hedysarum alpinum* L. // Вестник науки и образования. 2018. Т. 16-1(52). С. 85–91.
3. Глызин В.И., Баньковский А.И., Пименов М.Г., Боряев К.И. Ксантоновые гликозиды *Hedysarum flavescens* // Химия природных соединений. 1973. №3. С. 434–435.
4. Куваев В.Б., Глызин В.И., Глызина Г.С., Баньковский А.И. Перспективы поисков мангиферина в отечественной флоре // Растительные ресурсы. 1972. Т. 8 (3). С. 367–371.
5. Кривут Б.А., Федюнина Н.А., Кочерга С.И., Русакова С.В. Спектрофотометрическое определение мангиферина // Химия природных соединений. 1976. № 1. С. 44–46.
6. Соловьева Е.В., Хоциалова Л.И., Кривут Б.А., Глызин В.И., Майсурадзе Н.И. Содержание мангиферина у видов *Hedysarum* L., выращиваемых в Московской области // Растительные ресурсы. 1983. Т. 19 (3). С. 356–360.
7. Нечепуренко И.В., Половинка М.П., Комарова Н.И., Салахутдинов Н.Ф., Нечепуренко С.Б. Низкомолекулярные фенольные соединения корней *Hedysarum theinum* Krasnob. // Химия природных соединений. 2008. №1. С. 3–9. DOI: 10.1007/s10600-008-0009-9.
8. Liu Y., Zhang Z., Zhang Q.Y., Pu X.P., Zhao Y.Y. Study on chemical constituents and antioxidative activity of Radix *Hedysari* // China Pharm. 2010. Vol. 24. Pp. 543–549.
9. Dong Y., Tang D., Zhang N. et al. Phytochemicals and biological studies of plants in genus *Hedysarum* // Chem. Cent. J. 2013. Vol. 7(1). P. 124. DOI: 10.1186/1752-153X-7-124.
10. Liu Y., Zhao Y.Y., Chen H.B., Wang B., Zhang Q.Y. Chemical analysis of the principal flavonoids of Radix *Hedysari* by HPLC // Nat Prod Commun. 2010. Vol. 5 (4). Pp. 541–544.
11. Liu Y., Chen H.B., Zhao Y.Y., Wang B., Zhang Q.Y., Zhang L., Tu P.F. Quantification and stability studies on the flavonoids of Radix *Hedysari* // J. Agric. Food Chem. 2006. Vol. 54. Pp. 6634–6639.
12. Hai L.Q., Zhang Q.Y., Liang H., Zhao Y.Y., Du N.S. Study on chemical constituents of *Hedysarum polybotrys* // Acta Pharm Sinica. 2003. Vol. 38. Pp. 592–595.
13. Huang Z., Cui Z., Ren Y., Zhang J., Cran M. Antiaging effect of *Hedysarum polybotrys* polysaccharide // Zhongcaoyao. 1992. Vol. 23 (9). Pp. 469–473.
14. Неретина О.В., Громова А.С., Луцкий В.И., Семенов А.А. Компонентный состав видов рода *Hedysarum* (Fabaceae) // Растительные ресурсы. 2004. Т. 40 (4). С. 111–138.
15. Кукушкина Т.А., Зиннер Н.С., Высочина Г.И., Свиридова Т.П. Содержание ксантонов в надземной части растений *Hedysarum theinum* Krasnob. и *H. alpinum* L. (Fabaceae) при выращивании в сибирском ботаническом саду (Томск) // Химия растительного сырья. 2011. №3. С. 113–116.
16. Денисова О.А., Глызин В.И., Патуди А.В., Гавриленко Б.Д. Определение содержания ксантонового гликозида мангиферина у некоторых растений родов *Iris*, *Gentiana*, *Hedysarum* // Химико-фармацевтический журнал. 1980. Т. 14. №12. С. 76–77.
17. Неретина О.В., Федоров С.В., Громова А.С., Луцкий В.И., Елькин Ю.Н. Флавоноиды *Hedysarum setigerum* // Химия природных соединений. 2002. №2. С. 161.
18. Китанов Г., Блинова К.Ф. Мангиферин в некоторых видах рода *Hypericum* // Химия природных соединений. 1978. №4. С. 524.
19. Фомина Л.И., Сацыперова И.Ф., Бандюкова В.А. Оптимизация хроматографического разделения мангиферина и гиперозида, выделенных из надземной части *Hedysarum alpinum* L. // Растительные ресурсы. 1990. Т. 25(3). С. 431–437.
20. Алпизарин. [Электронный ресурс]. URL: http://www.biomedservice.ru/preparat/libr_alpizarin.pdf
21. Кукушкина Т.А., Высочина Г.И., Карнаухова Н.А., Селютин И.Ю. Содержание мангиферина и суммы ксантонов в растениях некоторых дикорастущих и интродуцированных видов *Hedysarum* (Fabaceae) // Растительные ресурсы. 2011. Т. 47 (1). С. 99–105.
22. Комиссаренко А.Н., Надежина Т.П., Комиссаренко Н.Ф. Флавоноиды и ксантоны *Hedysarum connatum* и *H. alpinum* // Химия природных соединений. 1994. №4. С. 564–565.

23. Исаков В.А., Исаков Д.В., Архипова Е.И., Архипов Г.С. Диагностика и лечение герпетических инфекций // Вестник НовГУ. 2019. №3 (115). С. 31–35.
24. Государственная фармакопея Российской Федерации: XIV изд., в 4 т. М., 2018. URL: <http://femb.ru/femb/pharmасorea.php>

Поступила в редакцию 24 октября 2018 г.

После переработки 27 марта 2020 г.

Принята к публикации 7 апреля 2020 г.

Для цитирования: Имачуева Д.Р., Серебряная Ф.К., Зилфикаров И.Н. Количественное определение суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземных органах видов рода копеечник (*Hedysarum* L.) методом УФ-спектрофотометрии // Химия растительного сырья. 2020. №3. С. 179–186. DOI: 10.14258/jcprm.2020034553.

Imachuyeva D.R.^{1,2*}, *Serebryanaya F.K.*^{1,3}, *Zilfikarov I.N.*⁴ QUANTITATIVE DETERMINATION OF XANTHONE SUM IN TERMS OF MANGIFERIN IN AERIAN ORGANS OF SPECIES OF GENUS HEDYSARUM L. BY UV SPECTROPHOTOMETRY

¹ *Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University, pr. Kalinina, 11, Pyatigorsk, 357532 (Russia), e-mail: djakag01@gmail.com*

² *Dagestan State Medical University, pr. Lenina, 1, Makhachkala, 360000 (Russia)*

³ *Botanical Institute. V.L. Komarov RAS, ul. Professor Popova, 2, St. Petersburg, 197376 (Russia)*

⁴ *All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, ul. Greena, 7/1, Moscow, 117216 (Russia)*

Preparing of the antiviral and antibacterial medicinal plants is a promising task of native pharmacy. In this regard, it is interesting to study species of the genus penny, namely *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., the regions of distribution, chemical composition and known pharmacological properties will allow to justify directions of their rational use, as well as creation of new phytopreparations of antiviral action on the basis of medicinal raw materials.

During the complex pharmacognostic studies of three species of *Hedysarum* L. we have developed the method for isolation and quantitative determination of the sum of xanthenes in terms of mangiferin by UV spectrophotometry. The technique takes into account the basic physical and chemical properties of xanthenes, is characterized by reproducibility, high accuracy, simplicity of implementation, allows to carry out both screening evaluation of various raw objects containing mangiferin derivatives, as well as standardization of the prepared medicinal plant raw material of the penny. The developed methods are tested on the acrian organs of *Hedysarum* L. species, collected and dried taking into account the rules and requirements of drug raw material procurement. As a result, *Hedysarum caucasicum* M.Bieb herb (0.624%) was found to be the highest quantitative amount of xanthone sum in terms of mangiferin. The obtained results show the prospect of further research of the acrian part of the *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. as an additional source of mangiferin.

The method of quantitative determination of xanthone sum in the list for mangiferin in the above-ground part of *Hedysarum caucasicum* M.Bieb; Based on the obtained data, it has been found that the proposed technique is highly sensitive, reproducible and usable.

Keywords: *Hedysarum caucasicum*, *Hedysarum grandiflorum*, *Hedysarum daghestanicum*, summary of xanthenes, mangiferine, TLC, UV spectrophotometry, validation.

* Corresponding author.

References

1. Imachuyeva D.R., Serebryanaya F.K. *Farmatsiya i farmakologiya*, 2016, vol. 4(6), pp. 4–32. (in Russ.).
2. Fedorova Yu.S., Kul'pin P.V., Suslov N.I., Melent'yeva Yu.V., Kosenko K.K. *Vestnik nauki i obrazovaniya*, 2018, vol. 16-1(52), pp. 85–91. (in Russ.).
3. Glyzin V.I., Ban'kovskiy A.I., Pimenov M.G., Boryayev K.I. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1973, no. 3, pp. 434–435. (in Russ.).
4. Kuvayev V.B., Glyzin V.I., Glyzina G.S., Ban'kovskiy A.I. *Rastitel'nyye resursy*, 1972, vol. 8 (3), pp. 367–371. (in Russ.).
5. Krivut B.A., Fedyunina N.A., Kocherga S.I., Rusakova S.V. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1976, no. 1, pp. 44–46. (in Russ.).
6. Solov'yeva Ye.V., Khotsialova L.I., Krivut B.A., Glyzin V.I., Maysuradze N.I. *Rastitel'nyye resursy*, 1983, vol. 19(3), pp. 356–360. (in Russ.).
7. Nechepurenko I.V., Polovinka M.P., Komarova N.I., Salakhutdinov N.F., Nechepurenko S.B. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 2008, no. 1, pp. 3–9. DOI: 10.1007/s10600-008-0009-9. (in Russ.).
8. Liu Y., Zhang Z., Zhang Q.Y., Pu X.P., Zhao Y.Y. *China Pharm.*, 2010, vol. 24, pp. 543–549.
9. Dong Y., Tang D., Zhang N. et al. *Chem. Cent. J.*, 2013, vol. 7(1), p. 124. DOI: 10.1186/1752-153X-7-124.
10. Liu Y., Zhao Y.Y., Chen H.B., Wang B., Zhang Q.Y. *Nat Prod Commun.*, 2010, vol. 5 (4), pp. 541–544.
11. Liu Y., Chen H.B., Zhao Y.Y., Wang B., Zhang Q.Y., Zhang L., Tu P.F. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, vol. 54, pp. 6634–6639.
12. Hai L.Q., Zhang Q.Y., Liang H., Zhao Y.Y., Du N.S. *Acta Pharm Sinica.*, 2003, vol. 38, pp. 592–595.
13. Huang Z., Cui Z., Ren Y., Zhang J., Cran M. *Zhongcaoyao*, 1992, vol. 23 (9), pp. 469–473.
14. Neretina O.V., Gromova A.S., Lutskiy V.I., Semenov A.A. *Rastitel'nyye resursy*, 2004, vol. 40 (4), pp. 111–138. (in Russ.).
15. Kukushkina T.A., Zinner N.S., Vysochina G.I., Sviridova T.P. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2011, no. 3, pp. 113–116. (in Russ.).
16. Denisova O.A., Glyzin V.I., Patudi A.V., Gavrilenko B.D. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 1980, vol. 14, no. 12, pp. 76–77. (in Russ.).
17. Neretina O.V., Fedorov S.V., Gromova A.S., Lutskiy V.I., Yel'kin Yu.N. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 2002, no. 2, p. 161. (in Russ.).
18. Kitanov G., Blinova K.F. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1978, no. 4, p. 524. (in Russ.).
19. Fomina L.I., Satsyperova I.F., Bandyukova V.A. *Rastitel'nyye resursy*, 1990, vol. 25(3), pp. 431–437. (in Russ.).
20. *Alpizarin*. [Electronic resource] URL: http://www.biomedservice.ru/preparat/libr_alpizarin.pdf (in Russ.).
21. Kukushkina T.A., Vysochina G.I., Karnaukhova N.A., Selyutina I.Yu. *Rastitel'nyye resursy*, 2011, vol. 47 (1), pp. 99–105. (in Russ.).
22. Komissarenko A.N., Nadezhina T.P., Komissarenko N.F. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1994, no. 4, pp. 564–565. (in Russ.).
23. Isakov V.A., Isakov D.V., Arkhipova Ye.I., Arkhipov G.S. *Vestnik NovGU*, 2019, no. 3 (115), pp. 31–35. (in Russ.).
24. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii: XIV izd., v 4 t.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation: XIV ed., In 4 volumes]. Moscow, 2018, URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (in Russ.).

Received October 24, 2018

Revised March 27, 2020

Accepted April 7, 2020

For citing: Imachuyeva D.R., Serebryanaya F.K., Zilfikarov I.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 3, pp. 179–186. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020034553.