

УДК 615.322:582.929:547.588: 543.062

## РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЕНОЛОКИСЛОТ В НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ЗИЗИФОРЫ КЛИНОПОДИЕВИДНОЙ (*ZIZIPHORA CLINOPODIOIDES* LAM.)

© В.Ю. Андреева\*, Г.И. Калинкина, В.В. Ли

Сибирский государственный медицинский университет, Московский  
тракт, 2, Томск, 634050 (Россия), e-mail: vilival@yandex.ru

Цель исследования: разработать и провести валидационную оценку методики определения содержания суммы фенолокислот в надземной части *Ziziphora clinopodioides* Lam.

При использовании эфирномасличного растения в виде водно-спиртовых экстрактов оценку качества лекарственного сырья и его препаратов проводят, как правило, по содержанию сопутствующих эфирному маслу биологически активных веществ. К таковым в надземной части *Z. clinopodioides* относятся фенольные соединения. Наиболее рациональным для оценки качества предлагаемого лекарственного сырья является сумма фенолокислот, так как ультрафиолетовый спектр экстракта *Z. clinopodioides* имеет наиболее характерный для фенолокислот максимум поглощения в УФ-области электронного спектра (325–330 нм) и совпадает с максимумом индивидуального известного образца хлорогеновой кислоты.

На основании исследования спектра поглощения водно-спиртового экстракта разработана методика количественного определения суммы фенолокислот в надземной части *Ziziphora clinopodioides* методом прямой спектрофотометрии в пересчете на хлорогеновую кислоту. При разработке методики было изучено влияние на выход фенолокислот следующих факторов: природа экстрагента, соотношение сырье : экстрагент, длительность экстракции, степень измельченности сырья, кратность экстракции, температура экстракции; установлены их оптимальные значения.

Проведена валидация методики количественного определения суммы фенолокислот в надземной части *Ziziphora clinopodioides*; на основании полученных данных установлено, что предложенная методика является высокочувствительной, правильной, воспроизводимой и пригодна для использования в аналитической лаборатории.

**Ключевые слова:** *Ziziphora clinopodioides*, фенолокислоты, спектрофотометрия, валидация.

### Введение

Род *Ziziphora* L. включает в себя около 30 видов, распространенных в Передней, Средней Азии и в Средиземноморье. На территории Российской Федерации произрастает 6 видов этого рода. Во Флоре Сибири описан только один вид *Ziziphora clinopodioides*, произрастающий на территории Сибири [1, 2].

Зизифора клиноподиевидная (син.: з. пахучковидная) – *Ziziphora clinopodioides* Lam. (сем Lamiaceae) – многолетнее травянистое сильно пахучее растение с деревянистым корневищем, несколькими стеблями 8–40 см высотой, покрытыми короткими волосками. *Z. clinopodioides* – горный вид, произрастающий на каменистых и скалистых берегах рек, щебнистых склонах холмов и гор Алтая, Кузнецкого Алатау, Горной Шории, Саянах, Средней Азии; занимает обширные территории [2].

Растения рода *Ziziphora* L. применяются в народной медицине при гипертонической болезни, неврозах, ревмокардитах [3]. Экспериментальные исследования видов зизифоры показали ее эффективность при ишемической болезни сердца и коронарного атеросклероза, а также в качестве гемостатического, антигипоксического и кардиотонического средств [4–6].

---

Андреева Валерия Юрьевна – доцент кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, e-mail: vilival@yandex.ru

Калинкина Галина Ильинична – заведующий кафедрой фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, e-mail: galina\_kalinkina@mail.ru

Ли Валерия Владимировна – студентка

*Z. clinopodioides* содержит значительное количество эфирного масла, которое имеет своеобразный приятный запах и используется для отдушки мыла, зубных паст. Настой и эфирное масло зизифоры обладают антимикробным, спазмолитическим и желчегонным действием [3, 4].

---

\* Автор, с которым следует вести переписку.

В составе эфирного масла *Z. clinopodioides*, произрастающей на Алтае, содержится не менее 48 компонентов: преобладает пулегон (45–50%), тимол, ментон, изоментон (23–26%), карвон, ментол и его изомеры [7, 8]. С содержанием пулегона и тимола связывают антибактериальную активность эфирного масла *Z. clinopodioides* [9, 10]. Кроме того, пулегон проявил выраженный фунгистатический эффект в отношении поверхностных дерматофитов и может быть рекомендован в качестве противогрибкового средства [11–13]. Также было исследовано влияние отдельных компонентов эфирного масла *Z. clinopodioides* на сердечно-сосудистую систему и выявлена активность у тимола, карвакрола, линалоола и других компонентов, что подтверждает возможность использования препаратов *Z. clinopodioides* в качестве кардиотонического средства [14].

Другой важной группой биологически активных веществ *Z. clinopodioides* являются фенольные соединения. В их составе идентифицированы лютеолин, акацетин, хризин, диосметин и другие, а также фенолокси-лоты кофейная и салициловая [15, 16]. Фенольные соединения надземной части *Z. clinopodioides* проявляют антиоксидантную, антибактериальную, сосудорасширяющую и противоопухолевую активность [17, 18].

Таким образом, надземная часть *Z. clinopodioides*, несомненно, представляет интерес для медицинской практики. Одним из разделов внедрения нового лекарственного сырья в медицинскую практику является его химико-фармакологическое изучение, и разработка методик оценки качества (стандартизации) лекарственного сырья данного вида является актуальной.

При использовании эфирномасличного растения в таких лекарственных формах, как водные настои, водно-спиртовые настойки и экстракты, сквозную стандартизацию лекарственного сырья и его препаратов проводят, как правило, по содержанию сопутствующих эфирному маслу биологически активных веществ [19]. К таковым в надземной части *Z. clinopodioides* относятся фенольные соединения (флавоноиды и фенолокси-лоты). Наиболее рациональным для оценки качества предлагаемого лекарственного сырья, на наш взгляд, является сумма фенолокси-лот, так как ультрафиолетовый спектр экстракта *Z. clinopodioides* имеет наиболее характерный для фенолокси-лот максимум поглощения в УФ-области электронного спектра (325–330 нм) и совпадает с максимумом индивидуального известного образца хлорогеновой кислоты.

Цель данного исследования – разработать и провести валидационную оценку методики определения содержания суммы фенолокси-лот в надземной части *Z. clinopodioides*.

### Экспериментальная часть

Объектом исследования служили образцы надземной части *Ziziphora clinopodioides* Lam., сем. *Lamiaceae*, заготовленные в окрестностях села Камлак Шебалинского района Республики Алтай в 2016–2017 г. в фазе массового цветения и высушенные воздушно-теновой сушкой до воздушно-сухого состояния. При разработке методики водно-спиртовые извлечения из надземной части *Z. clinopodioides* 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 хлорогеновую кислоту фирмы «Sigma».

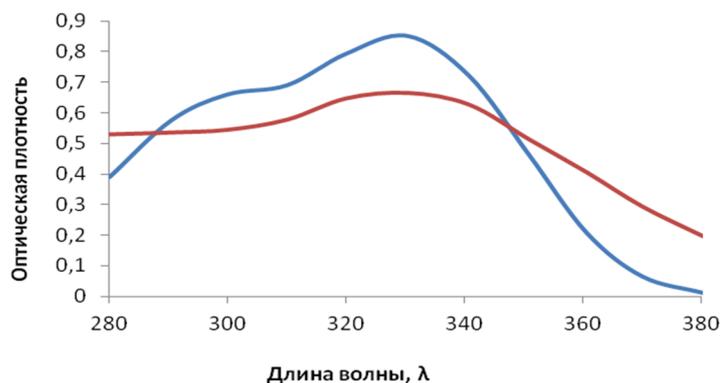
Валидационные испытания методики проводили методами математической статистики по следующим показателям: прецизионность (повторяемость), правильность, воспроизводимость (лабораторная и межлабораторная), и линейность [20]. Для статистической обработки результатов использовали пакет прикладных программ «Microsoft Excel 2007».

### Обсуждение результатов

При изучении спектральных характеристик извлечений из надземной части *Z. clinopodioides*, полученных различными экстрагентами (водно-спиртовые смеси различной концентрации) наблюдали основной максимум поглощения в области  $328 \pm 2$  нм, характерный для фенолокси-лот [19]. При этом установлено, что максимум поглощения экстракта из надземной части *Z. clinopodioides*, полученного 70% спиртом этиловым совпадает с максимумом поглощения СО хлорогеновой кислоты ( $328 \pm 2$  нм) [20] (рис. 1), что дает возможность использовать данное вещество в качестве стандартного и проводить пересчет суммы фенолокси-лот на хлорогеновую кислоту. Содержание хлорогеновой кислоты в надземной части *Z. clinopodioides* было подтверждено методом хроматографии на бумаге в системе растворителей: 2% кислота уксусная ( $R_f - 0.64$ ) и тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе растворителей: *n*-бутанол – кислота уксусная ледяная – вода (4 : 1 : 2) ( $R_f - 0,5$ ).

Для расчета суммы фенолокси-лот в надземной части *Z. clinopodioides* использовали удельный показатель поглощения ( $E_{1\%}^{1\text{см}}$ ) хлорогеновой кислоты при длине волны  $328 \pm 2$  нм, равный 507 [20, 21].

Рис. 1. Электронный спектр извлечения из надземной части *Ziziphora clinopodioides* (1) и стандартного образца хлорогеновой кислоты (2)



При разработке методики было изучено влияние на выход фенолокислот следующих факторов: степень измельченности сырья, природа экстрагента, соотношение сырье: экстрагент, длительность кратность и температура экстракции (табл. 1).

Данные, представленные в таблице 1, показывают, что оптимальными условиями для извлечения фенолокислот из надземной части *Z. клиноподиевидной* являются: степень измельченности сырья – 1 мм, экстрагент – 70% спирт этиловый, соотношение сырья и экстрагента – 1 : 200, температура экстракции – 100 °С. Для наиболее полного извлечения фенолокислот целесообразно проводить двухкратную экстракцию по 20 мин, дальнейшее увеличение времени и кратности экстракции не приводит к существенному повышению содержания фенолокислот в извлечении.

**Методика определения фенолокислот.** Аналитическую пробу измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 1 мм. Около 0,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 70% спирта этилового. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 мин. После охлаждения до комнатной температуры содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Экстракцию повторяют еще раз указанным выше способом 35 мл 70% спирта этилового. Извлечения фильтруют через бумажный фильтр в ту же мерную колбу. Объединенные извлечения в мерной колбе доводят до метки 70% спиртом этиловым (раствор А).

Таблица 1. Влияние различных факторов на полноту извлечения фенолокислот из надземной части *Ziziphora clinopodioides*

Водно-спиртовые извлечения, % спирта этилового	Длительность экстракции, мин	Соотношение сырье : экстрагент	Кратность экстракции	Измельченность сырья, мм	Температура экстракции, °С	Содержание фенолокислот, % на а.с.м. сырья
Вода	20	1 : 200	2	1	100	2.97±0.09
40						3.28±0.10
70						4.21±0.02
95						2.10±0.06
70	20	1 : 200	2	1	100	4.19±0.08
		1 : 100				2.58±0.08
		1 : 50				2.43±0.07
70	15	1 : 200	1	1	100	2.85±0.04
	20					3.94±0.11
	30					3.87±0.09
70	20	1 : 200	1	1	100	3.94±0.11
			2			4.94±0.08
			3			4.95±0.05
70	20	1 : 200	2	1	100	4.95±0.05
				3		4.08±0.09
				5		0.86±0.03
70	20	1 : 200	2	1	60	2.80±0.08
					80	2.90±0.09
					100	4.93±0.04

1 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки 70% спиртом этиловым (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряют на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны  $328 \pm 2$  нм. В качестве раствора сравнения используют 70% спирт этиловый. Содержание суммы фенолоксилов в процентах ( $X$ ) в пересчете на хлорогеновую кислоту и абсолютно-сухую массу сырья вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times V_1 \times V_3 \times 100}{m \times 507 \times V_2 \times (100 - W)}$$

где  $A$  – оптическая плотность исследуемого раствора;  $V_1$  – объем раствора А;  $V_2$  – объем аликвоты раствора А;  $V_3$  – объем раствора Б;  $m$  – масса сырья в граммах; 507 – удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при длине волны  $328 \pm 2$  нм;  $W$  – влажность сырья, %.

**Валидация методики.** Для оценки повторяемости методики получали шесть независимых результатов измерений одним методом, в одной лаборатории, одним лаборантом-исследователем, с использованием одного спектрофотометра, в пределах короткого промежутка времени. Статистическая обработка полученных результатов показала, что они достоверны при доверительной вероятности 95%, вычисленные значения величины относительного стандартного отклонения (RSD) – 0.04% и относительного доверительного интервала среднего значения – 0.44% не превышают критериев приемлемости – 5%, что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости (табл. 2).

Воспроизводимость методики определяли в двух различных лабораториях СибГМУ разными лаборантами-исследователями, по 3 испытания образца на 3 разных уровнях концентраций в интервале 80–120% от принятого опорного значения на идентичных образцах сырья (табл. 3).

Статистическое тестирование выбросов проводили с использованием критерия Кохрена, дисперсии и стандартного отклонения для каждого уровня и рассчитывали по ГОСТ Р ИСО [22]. При рассмотрении данных, не обнаружив, какой-либо зависимости, в качестве показателей прецизионности, нами были выбраны средние значения стандартных отклонений. Данные значения стандартных отклонений могут быть применены в диапазоне содержания суммы ФК от 3.68% до 6.49%. Меры прецизионности для данного метода измерений не превышают критериев приемлемости, как для внутрилабораторной прецизионности  $3.28\% < 10\%$ , так и для межлабораторной прецизионности  $6.25\% < 15\%$ , что указывает на хорошую воспроизводимость методики.

Линейность аналитической методики определяли на 5 уровнях концентрации. Образцы готовили путем изменения аликвоты (табл. 4). В ходе определения линейности установлено, что график зависимости имеет линейный характер в области концентрации суммы ФК и описывается уравнением:  $y = 4.792x - 0.092$ .

Коэффициент корреляции близок к единице – 0.9944, 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 *Z. clinopodioides* с добавлением известного количества СО хлорогеновой кислоты по 3 испытания образца на 3 уровнях концентраций (табл. 5).

Критерий приемлемости – средний процент восстановления при использовании растворов заданных концентраций, скорректированный на 100%, средняя величина которого должна находиться в пределах  $100 \pm 5\%$ . В разработанной методике процент восстановления находился в пределах от 97.74% до 101.74%, его средняя величина составила 99.94%.

Таблица 2. Результаты оценки повторяемости методики

№ опыта	1	2	3	4	5	6		
Содержание ФК в пересчете на ХГК, %	4.98	4.92	4.94	4.95	4.93	4.94		
Метрологические характеристики								
$X_{cp}$	$S^2$	$S$	$S_x$	$S_r$	$P$ (%)	$t(P, f)$	$\Delta x_{cp}$	$\epsilon, \%$
4.94	0.0004	0.02	0.008	0.004	95	2.57	0.04	0.44

Таблица 3. Результаты оценки воспроизводимости методики

		Лаборатория № 1			Лаборатория № 2				
Уровни		1	2	3	1	2	3		
Объем аликвоты раствора А, мл		0.75	1.00	1.25	0.75	1.00	1.25		
Среднее содержание ФК, %, $X_{cp}$		3.68	4.94	6.26	3.76	4.98	6.49		
Метрологические характеристики определения на разных уровнях концентрации									
№ лабора- тории	$X_{cp}$	$S^2$	S	$S_x$	$S_r$	P, %	t (P, f)*	$\Delta x$	$\epsilon$ , %
1	3.68	0.002	0.10	0.04	0.003	95	2.77	0.12	3.28
1	4.94	0.001	0.02	0.01	0.004	95	2.77	0.03	0.58
1	6.26	0.010	0.09	0.04	0.016	95	2.77	0.12	1.95
2	3.71	0.002	0.12	0.045	0.031	95	2.77	0.11	3.13
2	4.98	0.0001	0.07	0.03	0.022	95	2.77	0.07	1.48
2	6.49	0.0014	0.09	0.04	0.013	95	2.77	0.09	1.43
Метрологические характеристики определения между двумя лабораториями									
1 уровень	3.69	0.0003	0.023	0.013	0.006	95	4.3	0.06	1.57
2 уровень	4.96	0.0004	0.030	0.020	0.006	95	4.3	0.07	1.45
3 уровень	6.37	0.012	0.150	0.090	0.020	95	4.3	0.39	6.25

Таблица 4. Результаты оценки линейности методики

Номер уровня	Объем аликвоты раствора, А	% от принятого опорного значения	Содержание ФК, %
Первый	0.50	50	2.41
Второй	0.75	75	3.68
Третий	1.00	100	4.98
Четвертый	1.25	125	6.26
Пятый	1.50	150	7.12

Рис. 2. График линейной зависимости между оптической плотностью и содержанием суммы фенолоксилов в надземной части *Ziziphora clinopodioides*

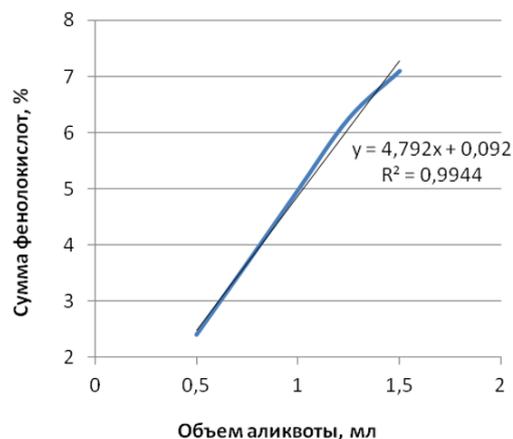


Таблица 5. Результаты определения правильности методики

Уровни (концентрации)	1	1	1	2	2	2	3	3	3
V – объем аликвоты раствора А, мл;	0.75	0.75	0.75	1.00	1.00	1.00	1.25	1.25	1.25
Содержание суммы фенолоксилов, г	0.0371	0.0363	0.0372	0.0493	0.0493	0.0484	0.0635	0.0646	0.0651
Добавлено СО хлорогеновой кислоты, г	0.010	0.010	0.010	0.015	0.015	0.015	0.020	0.020	0.020
Содержание суммы фенолоксилов (ожидаемое), г	0.0464	0.0468	0.0476	0.0597	0.0599	0.0582	0.0722	0.0759	0.0734
Сумма фенолоксилов (полученное), г	0.0464	0.0468	0.0456	0.0597	0.0599	0.0582	0.071	0.0759	0.0724
Отношение, % $M_{полученное} * 100\% / M_{ожидаемое}$	98.51	101.08	100.85	100.67	101.01	99.66	98.23	101.74	97.74
Метрологические характеристики									
$X_{cp}$	$S^2$	S	$S_x$	$S_r$	P (%)	t (P, f)	$\Delta x_{cp}$	$\epsilon$ , %	
100.29	3.19	1.01	0.41	0.01	95	2.31	0.96	0.95	

### Заключение

Разработана методика количественного определения суммы фенолоксилов в надземной части *Ziziphora clinopodioides* методом прямой спектрофотометрии в пересчете на хлорогеновую кислоту. Установлены оптимальными условия методики: экстрагент – 70% спирт этиловый, двукратная экстракция по 20 мин, соотношение сырья и экстрагента – 1 : 200, степень измельченности сырья – 1 мм, температура экстракции – 100 °С.

Проведена валидация методики количественного определения суммы фенолоксилов в надземной части *Ziziphora clinopodioides*; на основании полученных данных установлено, что предложенная методика является высокочувствительной, правильной, воспроизводимой и пригодна для использования в аналитической лаборатории.

### Список литературы

1. Плантариум. Определитель растений онлайн. Род Зизифора – описание таксона. – Электрон. дан. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.plantarium.ru/> (дата обращения: 22.01.2019).
2. Флора Сибири. Rutaceae – Lamiaceae (Labiatae): в 14 томах. Т. 11 / под ред. Л.И. Малышева. Новосибирск, 1997. С. 202–203.
3. Никифоров Ю.В. Алтайские растения-целители. Горно-Алтайск, 1992. 208 с.
4. Zou G.A., Guo D., Zhao H.Q., Aisa H.A. Bioactive Constituents of *Ziziphora clinopodioides* // Chemistry of Natural Compounds. 2015. Vol. 51, issue 5. Pp. 961–963. DOI: 10.1007/s10600-015-1462-x.
5. Li Q., Tursun D., Shi C., Heyrulla M., Zhang X., Yang W. *Ziziphora clinopodioides* flavonoids protect myocardial cell damage from myocardial ischemia-reperfusion injury // Evid Based Complement Alternat Med. 2018. Vol. 2018. Article ID 8495010. 9 p. DOI: 10.1155/2018/8495010.
6. Растительные ресурсы России: дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность: в 4 т. 4 т. / под ред. А.Л. Буданцева. СПб., 2011. С. 286–287.
7. Дембицкий А.Д., Бергалиев Е.Ш., Калинин Г.И. Исследование химического состава эфирных масел зизифор, произрастающих в различных экологических условиях // Изв. НАН РК: Сер. хим. 1993. №4. С. 86–91.
8. Королюк Е.А., Кениг В., Ткачев А.В. Состав эфирного масла зизифоры пахучковидной (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) из Алтайского края и республики Алтай // Химия растительного сырья. 2002. № 1. С. 49–52.
9. Калинин Г.И., Зарубина Л.А., Дмитрук С.Е., Гуськова И.А. Антимикробные свойства эфирного масла зизифоры клиноподиевидной // Материалы науч. конф., посвящ. 75-летию Иркутского мед. ун-та. Иркутск, 1996. С. 110.
10. Aghajani Z., Assadian F., Masoudi Sh. Chemical composition and in vitro antibacterial activities of the oil *Ziziphora clinopodioides* subsp. *Bungeana* (Juz.) from Iran // Chemistry of Natural Compounds. 2008. Vol. 44, issue 3. Pp. 387–389. DOI: 10.1007/s10600-008-9073-4.
11. Георгиевский В.П., Комисаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск, 1990. 336 с.
12. Mahboubi M., Tabar R.H., Mahdizadeh E. Chemical composition and antifungal activities of *Ziziphora tenuifolia* and *Z. clinopodioides* essential oils against dermatophytes // Herba Polonica. 2018. Vol. 64, issue 2. Pp. 37–45. DOI: 10.2478/hepo-2018-0011.
13. Gursoy N., Sihoglu-Tepe A., Tepe B. Determination of in vitro antioxidative and antimicrobial properties and total phenolic contents of *Ziziphora clinopodioides*, *Cyclotrichium niveum* and *Mentha longifolia* ssp. *typhoides* var. *typhoides* // Journal of medicinal food. 2009. Vol. 12, no. 3. Pp. 684–689. DOI: 10.1089/jmf.2008.0102
14. Калинин Г.И., Березовская Т.П., Сальникова Е.Н., Дмитрук С.Е. Перспективы использования эфирномасличных растений флоры Сибири в медицинской практике // Химия растительного сырья. 2000. №3. С. 5–12.
15. Оганесян Г.Б., Галстян А.М., Мнацаканян В.А. и др. Фенольные и флавоноидные соединения *Ziziphora clinopodioides* // Химия природных соединений. 1991. №2. С. 286–287. DOI: 10.1007/bf00629776.
16. Yang X., Li N., Meng W. et al. Isolation and identification of chemical constituents from *Ziziphora clinopodioides* Lam. // Shenyang Yaokexue Xuebao. 2008. Vol. 25, no. 6. Pp. 456–458.
17. Tian S., Shi Y., Zhou L. et al. Total polyphenolic (flavonoids) content and antioxidant capacity of different *Ziziphora clinopodioides* Lam. extract // Pharmacognosy magazine. 2011. Vol. 7, no. 25. Pp. 65–68. DOI: 10.4103/0973-1296.75904.
18. Senejoux F., Girard C., Kerram P., Aisa H.A., Berthelot A., Bévalot F., Demougeot C. Mechanisms of vasorelaxation induced by *Ziziphora clinopodioides* Lam. (Lamiaceae) extract in rat thoracic aorta. // J. Ethnopharmacol. 2010. Vol. 132, issue 1. Pp. 268–273. DOI: 10.1016/j.jep.2010.08.028.
19. Государственная фармакопея Российской Федерации: научное издание. 14 изд. М., 2018. Т. 1. С. 276–288. [Электронный ресурс]. URL: [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_1/HTML/index.html](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html) (дата обращения: 22.01.2019).
20. Государственная фармакопея Российской Федерации: научное издание. 14 изд. М., 2018. Т. 4. С. 6143. [Электронный ресурс]. URL: [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_1/HTML/index.html](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html) (дата обращения: 22.01.2019).

21. Коломиец Н.Э., Калинин Г.И., Сапронова Н.Н. Стандартизация листьев крапивы // Фармация. 2011. №6. С. 22–24.
22. ГОСТ Р ИСО 5725-2-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений. М., 2002. 42 с.

*Поступила в редакцию 8 декабря 2018 г.*

*После переработки 20 февраля 2019 г.*

*Принята к публикации 20 февраля 2019 г.*

**Для цитирования:** Андреева В.Ю., Калинин Г.И., Ли В.В. Разработка и валидация методики количественного определения суммы фенолокислот в надземной части зизифоры клиноподиовидной (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) // Химия растительного сырья. 2019. №3. С. 161–168. DOI: 10.14258/jcprm.2019034683.

*Andreeva V.Y.\**, *Kalinkina G.I.*, *Li V.V.* THE DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE METHOD TO QUANTIFY THE AMOUNT OF PHENOLIC ACIDS IN AERIAL PARTS OF *ZIZIPHORA CLINOPODIOIDES* LAM.

*Samara State Medical University, ul. Chapaevskaya, 89, Samara, 443099 (Russia), e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru*

Development and validation of method for quantitative determination of the amount of phenolic acids in the aerial part of the *Ziziphora clinopodioides* Lam.

Objective: to develop and conduct a validation assessment of the method for determining the content of the amount of phenolic acids in the *Ziziphora clinopodioides*.

The method of quantification of phenolic acids equivalent to chlorogenic acid by direct spectrophotometry in aerial parts of the *Ziziphora clinopodioides* has been developed based on the study of the absorption spectrum of an aqueous-alcoholic extract. The influence of the following factors on the yield of phenolic acids was studied: the nature of the extractant, the ratio of raw material: extractant, the degree of particle fineness, the extraction multiplicity, the extraction temperature; their optimum values were established.

The method of quantitative determination of the amount of phenolic acids in the aerial part of the *Ziziphora clinopodioides* is validated; it has been established that the proposed method is highly sensitive, correct, reproducible and suitable for use in an analytical laboratory based on the data obtained.

*Keywords:* *Ziziphora clinopodioides*, phenolic acids, spectrophotometry, validation.

---

\* Corresponding author.

## References

1. *Plantarium. Opredelitel' rasteniy onlayn* [Plantarium. Identifier of plants online] [Electronic resource]. URL: <http://www.plantarium.ru/> (in Russ.)
2. *Flora Sibiri. Pyrolaceae – Lamiaceae (Labiatae)* [Flora of Siberia. Pyrolaceae – Lamiaceae (Labiatae)], vol. 11, Novosibirsk, 1997, pp. 202–203. (in Russ.)
3. Nikiforov Yu.V. *Altayskiye rasteniya-tseliteli* [Altai healing plants]. Gorno-Altaysk, 1992. 208 c. (in Russ.)
4. Zou G.A., Guo D., Zhao H.Q., Aisa H.A. *Chemistry of Natural Compounds*, 2015, vol. 51, issue 5, pp. 961–963. DOI: 10.1007/s10600-015-1462-x.
5. Li Q., Tursun D., Shi C., Heyrulla M., Zhang X., Yang W. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 2018, vol. 2018, article ID 8495010, 9 p. DOI: 10.1155/2018/8495010.
6. *Rastitel'nyye resursy Rossii: dikorastushchiye tsvetkovyye rasteniya, ikh komponentnyy sostav i biologicheskaya aktivnost'* [Plant resources of Russia: wild flowering plants, their component composition and biological activity], vol. 4, Sankt-Peterburg: Moscow, 2011, pp. 286–287. (in Russ.)
7. Dembitskiy A.D., Bergaliyev Ye.SH., Kalinkina G.I. *Izvestiya natsional'noy akademii nauk respubliki kazakhstan. Seriya khimiya*, 1993, no. 4, pp. 86–91. (in Russ.)
8. Korolyuk Ye.A., Kenig V., Tkachev A.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2002, no. 1, pp. 49–52. (in Russ.)
9. Kalinkina G.I., Zarubina L.A., Dmitruk S.Ye., Gus'kova I.A. *Materialy nauchnoy konferentsii, posvyashchennoy 75-letiyu Irkutskogo meditsinskogo universiteta* [Materials of the scientific conference dedicated to the 75th anniversary of the Irkutsk Medical University], Irkutsk, 1996, p. 110. (in Russ.)
10. Aghajani Z., Assadian F., Masoudi Sh. *Chemistry of Natural Compounds*, 2008, vol. 44, issue 3, pp. 387–389. DOI: 10.1007/s10600-008-9073-4.
11. Georgiyevskiy V.P., Komisarenko N.F., Dmitruk S.Ye. *Biologicheski aktivnyye veshchestva lekarstvennykh rasteniy* [Biologically active substances of medicinal plants], Novosibirsk, 1990, 336 p. (in Russ.)
12. Mahboubi M., Tabar R.H., Mahdizadeh E. *Herba Polonica*, 2018, vol. 64, issue 2, pp. 37–45. DOI: 10.2478/hepo-2018-0011.
13. Gursoy N., Sihoglu-Tepe A., Tepe B. *Journal of medicinal food*, 2009, vol. 12, no. 3, pp. 684–689. DOI: 10.1089/jmf.2008.0102.
14. Kalinkina G.I., Berezovskaya T.P., Sal'nikova Ye.N., Dmitruk S.Ye. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2000, no. 3, pp. 5–12. (in Russ.)
15. Oganessian G.B., Galstyan A.M., Mnatsakanyan V.A. i dr. *Khimiya prirodnykh soyedineniy*, 1991, no. 2, pp. 286–287. DOI: 10.1007/bf00629776 (in Russ.)
16. Yang X., Li N., Meng W. et al. *Shenyang Yaoke Daxue Xuebao*, 2008, vol. 25, no. 6, pp. 456–458.
17. Tian S., Shi Y., Zhou L. et al. *Pharmacognosy magazine*, 2011, vol. 7, no. 25, pp. 65–68. DOI: 10.4103/0973-1296.75904
18. Senejoux F., Girard C., Kerram P., Aisa H.A., Berthelot A., Bévalot F., Demougeot C. *J. Ethnopharmacol*, 2010, vol. 132, issue 1, pp. 268–273. DOI: 10.1016/j.jep.2010.08.028.
19. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation], Moscow, 2018, vol. 1, pp. 276–288. [Electronic resource] URL: [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_1/HTML/index.html](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html) (in Russ.)
20. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation], Moscow, 2018, vol. 4, p. 6143. [Electronic resource] URL: [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_1/HTML/index.html](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html) (in Russ.)
21. Kolomiets N.E., Kalinkina G.I., Sapronova N.N. *Farmatsiya*, 2011, no. 6, pp. 22–24. (in Russ.)
22. GOST R ISO 5725-2-2002. *Tochnost' (pravil'nost' i pretsizionnost') metodov i rezul'tatov izmereniy. Chast' 2. Osnovnoy metod opredeleniya povtoryayemosti i vosproizvodimosti standartnogo metoda izmereniy* [State standart R ISO 5725-2-2002. Accuracy (correctness and precision) of measurement methods and results. Part 2. The main method for determining the repeatability and reproducibility of the standard measurement method], Moscow, 2002, 42 p. (in Russ.)

Received December 8, 2018

Revised February 20, 2019

Accepted February 20, 2019

**For citing:** Andreeva V.Y., Kalinkina G.I., Li V.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 3, pp. 161–168. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2019034683.