

УДК 615.322: 547.972 +543.544

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ПЛОДАХ СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ

© В.А. Куркин*, М.К. Чередник

Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская,
89, Самара, 443099, Россия, v.a.kurkin@samsmu.ru

Софора японская (*Sophora japonica* L., сем. Бобовые – *Fabaceae*) – уникальный источник получения биологически активных соединений природного происхождения, в том числе флавоноидов. В научной медицине для получения лекарственных растительных препаратов используются цветки и плоды софоры японской. В цветках данного растения доминирующим флавоноидом является рутин (3-*O*-рутинозид кверцетина), содержание которого достигает 20–30%. В плодах софоры японской преобладающими флавоноидами являются изофлавоновый гликозид – софорикиозид (4'-*O*-β-*D*-глюкопиранозид генистеина) и производное флавонона – кемпферол-3-*O*-софорозид. Рутин как фармацевтическая субстанция, обладающая ангиопротекторным действием, широко используется для производства комбинированных лекарственных средств. Флавоноиды плодов софоры японской обладают бактерицидной, противовоспалительной, ранозаживляющей активностью и используются для получения настойки.

Цель настоящего исследования – разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в плодах софоры японской. В Государственную фармакопею Российской Федерации XV издания включена фармакопейная статья на сырье «Софоры японской плоды» ФС.2.5.0130 (взамен ФС 42-452-72), в соответствии с которой идентификацию плодов данного растения проводят путем определения основных групп биологически активных веществ методом тонкослойной хроматографии относительно фармакопейного стандартного образца софорикиозид. В разделе «Количественное определение» данной фармакопейной статьи предусмотрено определение суммы фенольных соединений методом прямой спектрофотометрии при аналитической длине волны 260 нм в пересчете на генистеин (5,7,4'-тригидроксифлаванон). На наш взгляд, данная методика недостаточно селективна, так как в плодах софоры японской наряду с флавоноидами содержатся такие фенольные соединения, как хлорогеновая, кофейная и галловая кислоты, которые по спектральным характеристикам отличаются от флавоноидов. Кроме того, расчет содержания суммы фенольных соединений осуществляют на генистеин, имеющий агликоновую природу, в то время как в плодах софоры японской преобладают флавоноидные гликозиды.

В результате проведенных исследований обосновано, что для целей стандартизации плодов софоры японской целесообразно использование дифференциальной спектрофотометрии, позволяющей более селективно определять содержание суммы флавоноидов. Разработана методика количественного определения содержания суммы флавоноидов в плодах софоры японской методом дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 400 нм с использованием фармакопейного стандартного образца цинарозида (3-*O*-β-*D*-глюкопиранозид лютеолина), имеющего близкие спектральные характеристики с флавоноидами данного сырья (производные флавонов). Определено, что содержание суммы флавоноидов в плодах софоры японской варьирует от 8.52±0.21 до 13.45±0.33% (в пересчете на цинарозид). Ошибка единичного определения содержания суммы флавоноидов в плодах софоры японской с доверительной вероятностью 95% составляет ±2.48%.

Ключевые слова: софора японская, *Sophora japonica* L., плоды, флавоноиды, софорикиозид, кемпферол-3-*O*-софорозид, цинарозид, спектрофотометрия, стандартизация.

Для цитирования: Куркин В.А., Чередник М.К. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в плодах софоры японской // Химия растительного сырья. 2025. №3. С. 157–166. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250315593>.

Введение

Софора японская (*Sophora japonica* L., семейство Бобовые – *Fabaceae*) – листопадное с раскидистой кроной дерево высотой до 25 м [1–4]. Листья данного растения крупные, непарноперистосложные светло-зеленого цвета, цветки небольшие, светло-желтые, мотыльковые в крупных метельчатых соцветиях, плоды представляют собой нераскрывающиеся приплюснuto-цилиндрические бобы до 10 см с четковидными утолщениями длиной [1–4].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Родина софоры японской – Китай и Япония. Софора японская культивируется в Российской Федерации (Республика Крым, Краснодарский и Ставропольский края, Ростовская область), а также в странах СНГ (Узбекистан, Таджикистан, Киргизия, Туркменистан, Казахстан, Азербайджан, Армения и др.) [1–8].

Софора японская – уникальный источник получения биологически активных соединений природного происхождения, в том числе флавоноидов. В научной медицине для получения лекарственных препаратов в качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС) используются цветки и плоды софоры японской. В цветках данного растения доминирующим флавоноидом является рутин (3-*O*-рутинозид кверцетина), содержание которого достигает 20–30%. К сопутствующим флавоноидам данного сырья относятся кверцетин (3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавоон), кемпферол-3-*O*-софорозид и гликозиды генистеина [2–4]. Наибольшую ценность представляет рутин (рутозид), обладающий антиоксидантной, ангиопротекторной, антиагрегантной, противовоспалительной, иммуномодулирующей активностью [2–5, 9–19]. Рутин как фармацевтическая субстанция широко используется для производства комбинированных лекарственных средств, в том числе Р-витаминных препаратов, эффективных при лечении многих заболеваний [2–4, 9, 11].

В плодах софоры японской преобладающими флавоноидами являются изофлавоновый гликозид – софорикозид (4'-*O*-β-D-глюкопиранозид генистеина) и производное флавона – кемпферол-3-*O*-софорозид (рис. 1). Среди других флавоноидов данного сырья известны также генистеин (5,7,4'-тригидроксиизофлавоон), генистин (7-*O*-β-D-глюкопиранозид генистеина), рутин, кверцетин и кемпферол (3,5,7,4'-тетрагидроксифлавоон) [2–4, 20, 21]. Кроме того, в плодах данного растения содержатся гидроксикоричные кислоты (хлорогеновая, кофейная кислоты) и фенолкарбоновые кислоты (галловая кислота) [8], а также тритерпеновые сапонины, полисахариды, аскорбиновая кислота, жирное масло и аминокислоты [17, 18, 22, 23].

В Государственную фармакопею Российской Федерации XV издания (ГФ РФ XV издания) включена фармакопейная статья на сырье «Софоры японской плоды» ФС.2.5.0130 (взамен ФС 42-452-72) [24], в соответствии с которой идентификацию плодов данного растения проводят путем определения основных групп биологически активных веществ методом тонкослойной хроматографии относительно фармакопейного стандартного образца софорикозида. В разделе «Количественное определение» данной фармакопейной статьи предусмотрено определение суммы фенольных соединений методом прямой спектрофотометрии при аналитической длине волны 260 нм в пересчете на генистеин. На наш взгляд, данная методика недостаточно селективна, так как в плодах софоры японской наряду с флавоноидами содержатся такие фенольные соединения, как хлорогеновая, кофейная и галловая кислоты, которые по спектральным характеристикам отличаются от флавоноидов. Кроме того, расчет содержания суммы фенольных соединений осуществляют на генистеин, имеющий агликоновую природу, в то время как в плодах софоры японской преобладают флавоноидные гликозиды.

Цель настоящего исследования – разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в плодах софоры японской.

Экспериментальная часть

Материалом исследования являлись образцы плодов софоры японской различных регионов и заготовителей: ООО «РТ» – ООО «Родные травы» (Республика Адыгея, г. Майкоп); ИП Гордеев М.В. – «Травник Гордеев» (г. Уфа); ООО «Старослав» (Новосибирская область, г. Бердск); ООО «Азбука трав» – (Алтайский край, г. Барнаул); ИП Репин Е.Е. (Республика Адыгея). Идентификация образцов ЛРС проведена нами в соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации XV издания – ФС.2.5.0130 «Софоры японской плоды» [24]. В качестве материала использовали также полученный нами ранее фармакопейный стандартный образец (ФСО) цинарозида [25], идентифицированный на основании данных УФ, ¹H-ЯМР-, ¹³C-ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии и соответствующий требованиям ФС 42-3150-95 (степень чистоты – 97.0%).

В качестве метода исследования использована прямая и дифференциальная спектрофотометрия в соответствии ОФС.1.2.1.1.0003 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» ГФ РФ XV издания [24]. Спектральные характеристики водно-спиртовых извлечений оценивали на спектрофотометре Specord 40 (AnalytikJena AG, Германия) в диапазоне длин волн 190–500 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

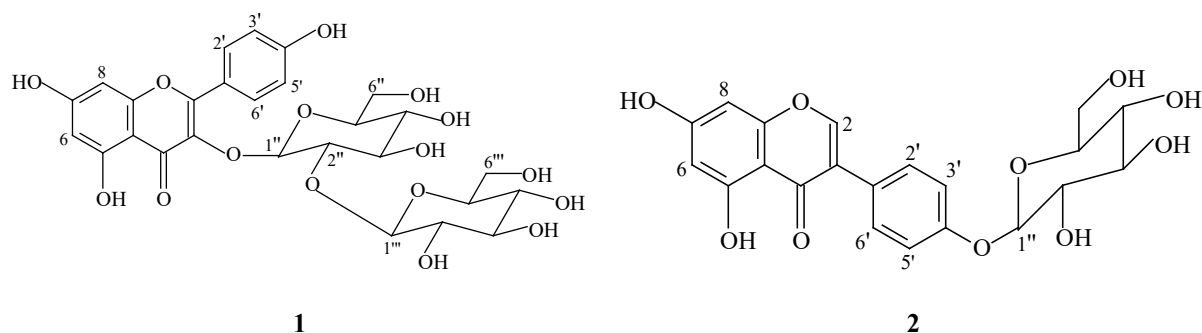


Рис. 1. Структурные формулы флавоноидов плодов софоры японской: 1 – кемпферол-3-О-софорозид; 2 – софорикиозид

Обсуждение результатов

При разработке методики количественного определения суммы флавоноидов в плодах софоры японской нами учитывалось свойство флавоноидов (флавоны и их производные – флавонолы) образовывать комплекс с раствором алюминия хлорида, что проявляется в образовании батохромного сдвига длинноволновой полосы в электронном спектре испытуемого раствора. При изучении электронных спектров водно-спиртовых извлечений плодов софоры японской обнаружены два максимума поглощения в области 265 ± 2 и 350 ± 2 нм (рис. 2), характерные для флавонов и флавонолов с замещенной 3-ОН-группой [26]. Этот вывод подтверждается батохромным сдвигом максимума поглощения длинноволновой полосы в электронном спектре водно-спиртового извлечения плодов софоры японской в присутствии алюминия хлорида в область 398 ± 2 нм (рис. 2). Максимум поглощения в электронном спектре водно-спиртового извлечения плодов софоры японской при 400 ± 2 нм обнаруживается также и в дифференциальном варианте (рис. 3).

Изучение УФ-спектров раствора ФСО цинарозиды показало, что в обоих случаях также наблюдается батохромный сдвиг длинноволновой полосы поглощения в присутствии $AlCl_3$ в условиях прямой спектрофотометрии в область 396 ± 2 нм и в дифференциальном варианте – 400 ± 2 нм (рис. 4 и 5).

Сравнительное изучение УФ-спектров водно-спиртовых извлечений из плодов софоры японской и раствора ФСО цинарозиды в условиях прямой спектрофотометрии в присутствии $AlCl_3$ показало, что максимумы длинноволновых полос поглощения находятся при 396 ± 2 и 398 ± 2 нм (рис. 6). Следовательно, именно флавоны и их производные (флавонолы) определяют спектральные характеристики водно-спиртовых извлечений плодов софоры японской. Это позволяет рекомендовать в качестве ФСО цинарозид, имеющий в условиях дифференциальной спектрофотометрии, как и водно-спиртовое извлечение плодов софоры японской, максимум поглощения при 400 ± 2 нм. Кроме того, пересчет содержания суммы флавоноидов в плодах софоры японской на цинарозид, имеющий гликозидную природу, позволяет повысить объективность методики. Важен и тот факт, что для одного из основных флавоноидных гликозидов – кемпферол-3-О-софорозид описаны противовоспалительные свойства [27].

В ходе разработки методики количественного определения суммы флавоноидов определены оптимальные условия экстракции флавоноидов из плодов софоры японской: экстрагент – 70% этиловый спирт; соотношение «сырье – экстрагент» – 1 : 50; время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане в течение 60 мин, степень измельчения сырья – 2 мм (табл. 1). Следовательно, подтверждено, что оптимальным экстрагентом является 70% этиловый спирт. Сопоставимые значения получены и в случае использования этилового спирта в диапазоне концентраций 40–60%, однако процесс фильтрации при этом заметно замедляется. Данный эффект наблюдается и в случае тонкого измельчения сырья (1 мм), тем более что тонко измельченное сырье быстро слеживается, затрудняя просеивание и взвешивание. Увеличение времени экстракции более 60 мин и соотношения более 1 : 50 не дает значимого увеличения полноты извлечения флавоноидов.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в плодах софоры японской. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 70% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до ± 0.01 . Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане

(умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем ее охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (синяя полоса).

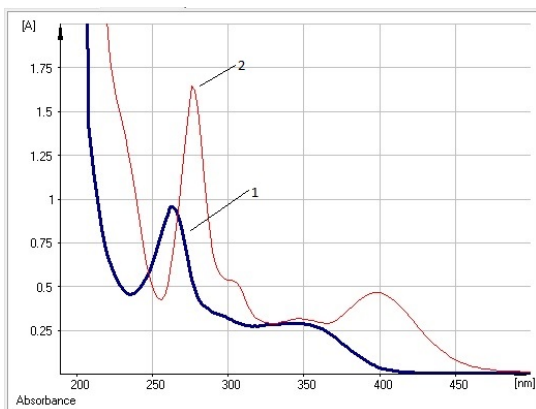


Рис. 2. Электронные спектры раствора водно-спиртового извлечения плодов софоры японской (1) и водно-спиртового извлечения плодов софоры японской в присутствии алюминия хлорида (2)

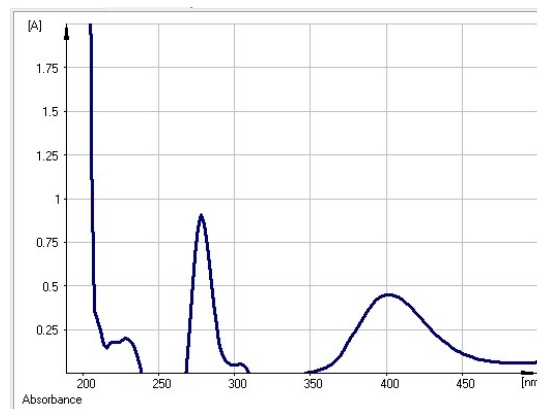


Рис. 3. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения плодов софоры японской (дифференциальный вариант)

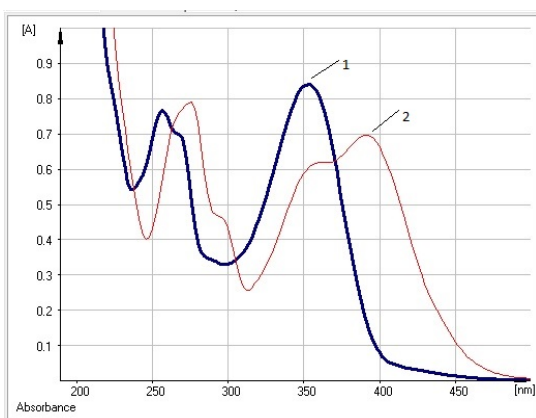


Рис. 4. Электронные спектры спиртового раствора ФСО цинарозида (1) и спиртового раствора цинарозида в присутствии алюминия хлорида (2)

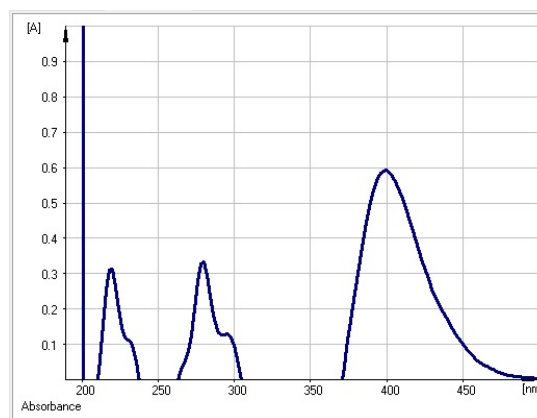


Рис. 5. Электронный спектр раствора спиртового раствора ФСО цинарозида (дифференциальный вариант)

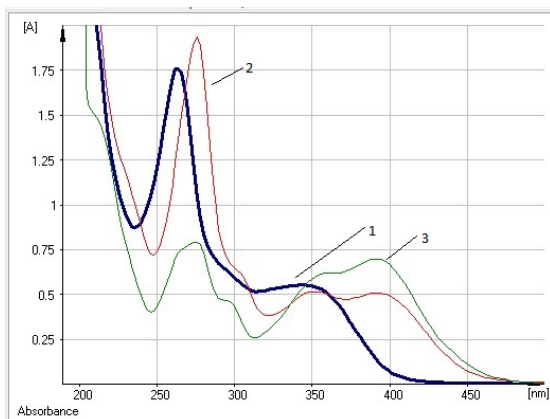


Рис. 6. Электронные спектры раствора водно-спиртового извлечения плодов софоры японской (1), водно-спиртового извлечения плодов софоры японской в присутствии алюминия хлорида (2) и спиртового раствора ФСО цинарозида в присутствии алюминия хлорида (3)

Таблица 1. Влияние различных факторов на полноту водно-спиртового извлечения флавоноидов из плодов софоры японской

| Экстрагент | Соотношение «сырье – экстрагент» | Время экстракции, мин | Степень измельчения, мм | Содержание суммы флавонолов в пересчете на цинарозид и абсолютно сухое сырье, % |
|--------------------------------|----------------------------------|-----------------------|-------------------------|---|
| Экстрагент | | | | |
| 40 | 1 : 50 | 60 | 2 | 13.46±0.74 |
| 50 | 1 : 50 | 60 | 2 | 12.96±0.72 |
| 60 | 1 : 50 | 60 | 2 | 13.17±0.76 |
| 70 | 1 : 50 | 60 | 2 | 13.93±0.75 |
| 80 | 1 : 50 | 60 | 2 | 13.33±0.73 |
| 90 | 1 : 50 | 60 | 2 | 10.02±0.74 |
| 96 | 1 : 50 | 60 | 2 | 9.73±0.74 |
| Время экстракции | | | | |
| 70 | 1 : 50 | 5 | 2 | 11.87±0.76 |
| 70 | 1 : 50 | 15 | 2 | 12.13±0.74 |
| 70 | 1 : 50 | 30 | 2 | 12.17±0.74 |
| 70 | 1 : 50 | 45 | 2 | 12.46±0.73 |
| 70 | 1 : 50 | 60 | 2 | 13.93±0.74 |
| 70 | 1 : 50 | 90 | 2 | 12.57±0.73 |
| 70 | 1 : 50 | 120 | 2 | 13.23±0.74 |
| Степень измельчения | | | | |
| 70 | 1 : 50 | 60 | 1 | 12.47±0.76 |
| 70 | 1 : 50 | 60 | 2 | 13.32±0.73 |
| 70 | 1 : 50 | 60 | 3 | 13.12±0.73 |
| Соотношение сырье : экстрагент | | | | |
| 70 | 1 : 30 | 60 | 2 | 12.24±0.76 |
| 70 | 1 : 50 | 60 | 2 | 13.94±0.74 |
| 70 | 1 : 100 | 60 | 2 | 13.98±0.73 |

Испытуемый раствор: 2 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем до метки спиртом этиловым 96% (раствор А), тщательно перемешивают. Далее 2 мл полученного раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл добавляют 2 мл 3 % спиртового раствора алюминия (III) хлорида, сразу перемешивают и доводят объем до метки спиртом этиловым 96% (испытуемый раствор Б), тщательно перемешивают, выдерживают 30 мин для образования окрашенных желтым цветом комплексов флавоноидов с алюминия хлоридом. Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора Б на спектрофотометре при длине волны 400 нм на фоне раствора сравнения.

Раствор сравнения: 2 мл раствор А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл доводят объем до метки спиртом этиловым 96%.

Приготовление раствора стандартного образца цинарозида

Около 0.0050 г (точная навеска) ФСО цинарозида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл 70% этилового спирта при нагревании. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А ФСО цинарозида). Далее 2 мл полученного раствора А ФСО цинарозида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл добавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия(III) хлорида, сразу перемешивают и доводят объем до метки спиртом этиловым 96% (испытуемый раствор Б ФСО цинарозида), тщательно перемешивают, выдерживают 30 мин для образования окрашенных желтым цветом комплексов цинарозида с алюминия хлоридом. Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора Б ФСО цинарозида на спектрофотометре при длине волны 400 нм на фоне раствора сравнения ФСО цинарозида.

Раствор сравнения цинарозида: 2 мл раствор А ФСО цинарозида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл доводят объем до метки спиртом этиловым 96%.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид и абсолютно сухое сырье в процентах (Х) вычисляют по формуле

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 2 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 2 \cdot 2 \cdot 25 \cdot 25} \cdot \frac{100}{100 - W},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора Б извлечения сырья; D_0 – оптическая плотность раствора ФСО цинарозида; m – масса сырья, г; m_0 – масса ФСО цинарозида, г.; W – потеря в массе при высушивании, %.

В случае отсутствия ФСО цинарозида целесообразно использовать рассчитанное значение удельного показателя поглощения при 400 нм – 340:

$$X = \frac{D \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{m \cdot 2 \cdot 340 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 340 – удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) ФСО цинарозида при 400 нм; W – потеря в массе при высушивании, %.

Критерием оценки аналитической методики является валидационная оценка. Валидацию методики проводили в соответствии с ГФ РФ XV издания [24].

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов в водно-спиртовом извлечении плодов софоры японской и раствора ФСО цинарозида.

Линейность методики определяли для серии водно-спиртовых растворов ФСО цинарозида (с концентрациями в диапазоне от 0.00424 до 0.0424 мг/мл) при длине волны 400 нм. На основании полученных данных строили график зависимости значений оптической плотности от концентрации водно-спиртовых растворов ФСО цинарозида и рассчитывали уравнение линейной регрессии (табл. 2, рис. 7).

Метрологические характеристики разработанной методики количественного определения суммы флавоноидов в плодах софоры японской представлены в таблице 3.

Ошибка единичного определения суммы флавоноидов в плодах софоры японской с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 2.48\%$ (табл. 3).

Таблица 2. Исходные данные для оценки линейности методики по раствору ФСО цинарозида

| Концентрация водно-спиртового раствора цинарозида, мг/мл | Значение оптической плотности, е.о.п. (среднее значение из четырех последовательных измерений) |
|--|--|
| 0.0042 | 0.1639 |
| 0.0084 | 0.2982 |
| 0.0169 | 0.5921 |
| 0.0424 | 1.5745 |

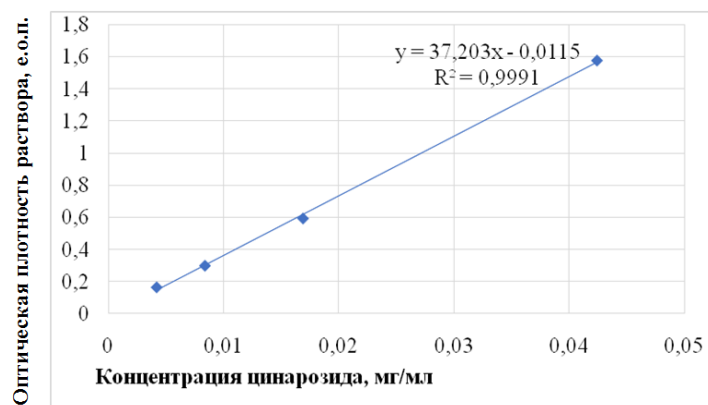


Рис. 7. Зависимости оптической плотности от концентрации водно-спиртовых растворов ФСО цинарозида

Таблица 3. Результаты оценки прецизионности методики количественного определения суммы флавоноидов в плодах софоры японской (уровень повторяемости)

| Метрологические характеристики | n | f | \bar{X} , % | S | $S_{\bar{X}}$ | P, % | T (P,t) (табл.) | $\Delta \bar{X}$ | E, % |
|--------------------------------|----|----|---------------|--------|---------------|------|-----------------|------------------|------------|
| Значения | 11 | 10 | 13.36 | 0.4351 | 0.1312 | 95 | 2.23 | ± 0.33 | ± 2.48 |

Установлено, что среднее содержание суммы флавоноидов в исследуемом образце сырья составило 13.36% (относительная погрешность определения составила $\pm 2.48\%$).

Таким образом, исходя из результатов валидационной оценки результатов эксперимента, можно сделать вывод о пригодности использования данной методики для количественной оценки суммы флавоноидов в пересчете на ФСО цинарозид в плодах софоры японской.

Определено, что сумма флавоноидов в пересчете на цинарозид в образцах плодов софоры японской различных регионов и заготовителей варьирует от 8.52 ± 0.21 до $13.45 \pm 0.33\%$ (табл. 4).

Таблица 4. Содержание суммы флавоноидов в образцах плодов софоры японской (в %) в пересчете на цинарозид и абсолютно сухое сырье

| № | Характеристика образца сырья | Содержание суммы флавоноидов, % |
|---|---|---------------------------------|
| 1 | ООО «РТ» – ООО «Родные травы», Республика Адыгея, г. Майкоп. Дата сбора: 06.2023 г. | 13.45 ± 0.33 |
| 2 | ИП Гордеев М.В. – «Травник Гордеев», г. Уфа. Дата сбора: 07.2022 г. | 11.56 ± 0.29 |
| 3 | ООО «Старослав», Новосибирская область, г. Бердск. Дата сбора: 06.2023 г. | 10.80 ± 0.26 |
| 4 | ООО «Азбука трав», Алтайский край, г. Барнаул. Дата сбора: 06.2023 г. | 12.83 ± 0.32 |
| 5 | ИП Репин Е.Е.Ю Республика Адыгея. Дата сбора: 06.2022 г. | 8.52 ± 0.21 |

Выводы

1. Выявлено, что флавоны и их производные (флавонолы) в основном определяют спектральные характеристики водно-спиртовых извлечений плодов софоры японской. Это позволяет рекомендовать использование цинарозида в качестве ФСО, имеющего в условиях дифференциальной спектрофотометрии, как и водно-спиртовое извлечение плодов софоры японской, максимум поглощения при 400 ± 2 нм.

2. Определено, что содержание суммы флавоноидов в плодах софоры японской варьирует от 8.52 ± 0.21 до $13.45 \pm 0.33\%$ (в пересчете на цинарозид и абсолютно сухое сырье). Погрешность единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 2.48\%$.

3. Результаты валидационной оценки по показателям специфичность, линейность, проведенные в соответствии с ГФ РФ XV издания, позволяют сделать вывод о пригодности использования данной методики для количественной определения суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид в плодах софоры японской.

4. Полученные результаты исследования могут быть использованы при разработке новой редакции раздела «Количественное определение» фармакопейной статьи ФС.2.5.0130 «Софоры японской плоды» для внедрения в Государственную фармакопею Российской Федерации.

Финансирование

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

Конфликт интересов

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

Открытый доступ

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

Список литературы

1. Флора СССР / под ред. Б.К. Шишкина. М., Л., 1954. Т. 21. С. 23.
2. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов), 5-е изд. перераб. и доп. Самара, 2020. 1278 с.
3. Муравьева Д.А. Фармакогнозия. М., 1981. 656 с.
4. Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия: учебник. М., 2016. 976 с.
5. Леонтьева Н.В. Флавоноиды-природные антиоксиданты // Журнал Казахско-Российского медицинского университета. 2024. №1(43). С. 44–50. <https://doi.org/10.24412/2790-1289-2024-1-44-50>.
6. Ковалева Л.Г., Сампиев А.М. Совершенствование технологии переработки плодов софоры японской в суммарный фитопрепарат // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2014. №4(9). С. 46–54.

7. Палий А.Е., Гребенникова О.А., Работягов В.Д., Палий И.Н. Биологически активные вещества пряно-ароматических и лекарственных растений коллекции Никитского ботанического сада // Биология растений и садоводство: теория, инновации. 2014. Т. 139. С. 107–115.
8. Ковалева Л.Г., Сампиев А.М., Ховача М.Р., Никифорова Е.Б. Современное состояние и перспективы дальнейшего исследования плодов софоры японской // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. 2012. №22 (141). С. 163–170.
9. Справочник Видаль «Лекарственные препараты в России» [Электронный ресурс]. URL: <https://www.vidal.ru>
10. Куркин В.А., Авдеева Е.В., Куркина А.В. Галямова В.Р. Возможности фитотерапии при заболеваниях системы пищеварения // Фармация и фармакология. 2016. Т. 4, №2. С. 26–40. [https://doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-2\(15\)-26-40](https://doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-2(15)-26-40).
11. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М., 2012.
12. Сампиев А.М., Никифорова Е.Б., Гамагина М.В. Актуальность исследований по созданию лекарственных средств полифункционального действия, сочетающих фармацевтические субстанции природного и синтетического происхождения // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». 2020. Т. 22, №1. С. 80–85.
13. Насудари А.А., Саилова Д.Д. Использование софоры японской, произрастающей в Азербайджане, для получения рутина, софорина и сока // Традиционная медицина и питание: тезисы докладов. М., 1994. С. 188.
14. Аслонова И.Ж., Кароматов И.Д. Лечебные свойства растения софора японская // Биология и интегративная медицина. 2017. №11. С. 179–190.
15. Сухенко Л.Т., Умерова А.Р. Перспективы создания профилактических препаратов с антиоксидантной активностью из растений Каспийского региона // Прикаспийский вестник медицины и фармации. 2023. Т. 4, №3. С. 39–44. <https://doi.org/10.29039/2712-8164-2023-3-39-44>.
16. Охременко О.С., Попова О.И. Полисахариды плодов софоры японской // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. Спецвыпуск. Фармакология. 2006. С. 52–54.
17. Тырков А.Г., Дегтярев О.В., Акмаев Э.Р., Носачев С.Б. Химический состав и противогрибковая активность масла софоры японской из астраханского региона // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2012. №6 (92). С. 50–53.
18. Охременко О.С., Верецагина В.В., Павлюченко И.И., Басов А.А., Моргоев А.Э. Амперометрическое определение антиоксидантной активности флавоноидов в различных извлечениях, полученных из плодов софоры японской // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. Спецвыпуск. Фармакология. 2006. С. 27–28.
19. Сидельников Н.И. Актуальные направления изучения перспективных видов лекарственных растений // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2024. Т. 14(2). С. 128–131. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-2-128-131>.
20. Chang L., Zhang X.X., Ren Y.P., Cao L., Zhi X.R., Zhang L.T. Simultaneous Quantification of Six Major Flavonoids From Fructus sophorae by LC-ESI-MS/MS and Statistical Analysis // Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2013. Vol. 75, no. 3. Pp. 330–338. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.117437>.
21. Qi Y., Sun A., Renmin Liu R., Meng Zh., Xie H. Isolation and purification of flavonoid and isoflavonoid compounds from the pericarp of *Sophora japonica* L. by adsorption chromatography on 12% cross-linked agarose gel media // Journal of Chromatography A. 2007. Vol. 1140, no. 1-2. Pp. 219–224. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.12.002>.
22. Дрозд Г.А., Горбачева Л.А. Фармакогностическо-иммунологическое изучение плодов софоры японской (*Sophora japonica* L.) // Фармация. 1994. №1. С. 34–37.
23. Ковалева Л.Г., Никифорова Е.Б. Исследование свободных аминокислот плодов софоры японской // Фундаментальные исследования. 2013. №10-11. С. 2487–2490.
24. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XV изд. М., 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>
25. Калашникова О.А., Рыжов В.М., Куркин В.А. Методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях цефаларии гигантской // Химико-фармацевтический журнал. 2023. Т. 57, №3. С. 29–34. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2023-57-3-29-34>.
26. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений. Монография. Самара, 2012. 290 с.
27. Kim T.H., Ku S.-K., Lee Ch., Bae J.-S. Anti-inflammatory effects of kaempferol-3-O-sophoroside in human endothelial cells // Inflammation Research. 2012. Vol. 61, no. 3. Pp. 217–224. <https://doi.org/10.1007/s00011-011-0403-9>.

Поступила в редакцию 21 июля 2024 г.

Принята к публикации 17 апреля 2025 г.

Kurkin V.A.*, Cherednik M.K. DEVELOPMENT OF METHOD FOR DETERMINATION THE TOTAL FLAVONOIDS IN SOPHORA JAPONICA FRUITS

Samara State Medical University, st. Chapaevskaya, 89, Samara, 443099, Russia, v.a.kurkin@samsmu.ru

Japanese sophora (*Sophora japonica* L., *Fabaceae* family) is a unique source of biologically active compounds of natural origin, including flavonoids. In scientific medicine, flowers and fruits of *Sophora japonica* are used to obtain medicinal herbal preparations. In the flowers of this plant, the dominant flavonoid is rutin (3-*O*-rutinoside of quercetin), whose content reaches 20–30%. In the fruits of *Sophora japonica*, the predominant flavonoids are isoflavone glycoside sophoricoside (4'-*O*-β-D-glucopyranoside of genistein) and flavone derivative kaempferol-3-*O*-sophoroside. Rutin, as a pharmaceutical substance with an angioprotective effect, is widely used for the production of combined medicines. The flavonoids of the fruits of *Sophora japonica* have bactericidal, anti-inflammatory, wound-healing activity and are used to produce tinctures. The purpose of this study is to develop a technique for quantifying the amount of flavonoids in the fruits of *Sophora japonica*. The XV edition of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation includes a pharmacopoeia article on raw materials «*Sophora japonica* fruits» FS.2.5.0130 (instead of FS 42-452-72), according to which the identification of fruits of this plant is carried out by determination of the main groups of biologically active substances by thin-layer chromatography relative to the pharmacopoeial standard sample of sophoricoside. The section «Quantitative determination» of this pharmacopoeia article provides for the determination of the total of phenolic compounds by direct spectrophotometry at an analytical wavelength of 260 nm calculated on genistein (5,7,4'-trihydroxyisoflavone). In our opinion, this technique is not selective enough, since the fruits of *Sophora japonica*, along with flavonoids, contain phenolic compounds such as chlorogenic, caffeic and gallic acids, which differ in spectral characteristics from flavonoids. In addition, the calculation of the amount of phenolic compounds is carried out on genistein, which has an aglycone nature, while flavonoid glycosides predominate in the fruits of *Sophora japonica*. As a result of the conducted research, it is proved that for the purposes of standardization of the fruits of *Sophora japonica*, it is advisable to use differential spectrophotometry, which allows more selectively determination of the content of the total flavonoids. A technique has been developed for the quantitative determination of the total flavonoids in the fruits of *Sophora japonica* by differential spectrophotometry at an analytical wavelength of 400 nm using a pharmacopoeial standard sample of cynaroside (3-*O*-β-D-glucopyranoside of luteolin) having similar spectral characteristics with flavonoids of this raw material (flavone derivatives). It was determined that the content of the total flavonoids in the fruits of *Sophora japonica* varies from 8.52 ± 0.21 to $13.45 \pm 0.33\%$ (calculated on cynaroside). The error of a single determination of the total flavonoids in the fruits of *Sophora japonica* with a 95% confidence probability is $\pm 2.48\%$.

Keywords: Japanese sophora, *Sophora japonica*, fruits, flavonoids, sophoricoside, kaempferol-3-*O*-sophoroside, cynaroside, spectrophotometry, standardization.

For citing: Kurkin V.A., Cherednik M.K. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2025, no. 3, pp. 157–166. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250315593>.

References

1. *Flora SSSR* [Flora of the USSR], ed. B.K. Shishkin. Moscow, Leningrad, 1954, vol. 21, p. 23. (in Russ.).
2. Kurkin V.A. *Farmakognosiya: uchebnik dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov (fakul'tetov), 5-ye izd. pererab. i dop.* [Pharmacognosy: textbook for students of pharmaceutical universities (faculties), 5th ed. revised and supplemented]. Samara, 2020, 1278 p. (in Russ.).
3. Murav'yeva D.A. *Farmakognosiya*. [Pharmacognosy]. Moscow, 1981, 656 p. (in Russ.).
4. Samylina I.A., Yakovlev G.P. *Farmakognosiya: uchebnik*. [Pharmacognosy: textbook]. Moscow, 2016, 976 p. (in Russ.).
5. Leont'yeva N.V. *Zhurnal Kazakhsko-Rossiyskogo meditsinskogo universiteta*, 2024, no. 1(43), pp. 44–50. <https://doi.org/10.24412/2790-1289-2024-1-44-50>. (in Russ.).
6. Kovaleva L.G., Sampiyev A.M. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2014, no. 4(9), pp. 46–54. (in Russ.).
7. Paliy A.Ye., Grebennikova O.A., Rabotyagov V.D., Paliy I.N. *Biologiya rasteniy i sadovodstvo: teoriya, innovatsii*, 2014, vol. 139, pp. 107–115. (in Russ.).
8. Kovaleva L.G., Sampiyev A.M., Khovacha M.R., Nikiforova Ye.B. *Nauchnyye vedomosti. Seriya Meditsina. Farmatsiya*, 2012, no. 22 (141), pp. 163–170. (in Russ.).
9. *Spravochnik Vidal' «Lekarstvennyye preparaty v Rossii»* [Vidal's Handbook "Medicines in Russia"]. URL: <https://www.vidal.ru> (in Russ.).
10. Kurkin V.A., Avdeyeva Ye.V., Kurkina A.V., Galyamova V.R. *Farmatsiya i farmakologiya*, 2016, vol. 4, no. 2, pp. 26–40. [https://doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-2\(15\)-26-40](https://doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-2(15)-26-40). (in Russ.).
11. Mashkovskiy M.D. *Lekarstvennyye sredstva*. [Medicines]. Moscow, 2012. (in Russ.).
12. Sampiyev A.M., Nikiforova Ye.B., Gamagina M.V. *Mediko-farmatsevticheskiy zhurnal «Pul's»*, 2020, vol. 22, no. 1, pp. 80–85. (in Russ.).
13. Nasudari A.A., Sailova D.D. *Traditsionnaya meditsina i pitaniye: tezisy dokladov*. [Traditional medicine and nutrition: abstracts of reports]. Moscow, 1994, p. 188. (in Russ.).
14. Aslonova I.Zh., Karomatov I.D. *Biologiya i integrativnaya meditsina*, 2017, no. 11, pp. 179–190. (in Russ.).
15. Sukhenko L.T., Umerova A.R. *Prikaspiyskiy vestnik meditsiny i farmatsii*, 2023, vol. 4, no. 3, pp. 39–44. <https://doi.org/10.29039/2712-8164-2023-3-39-44>. (in Russ.).
16. Okhremenko O.S., Popova O.I. *Izvestiya vuzov. Severo-Kavkazskiy region. Yestestvennyye nauki. Spetsvypusk. Farmakologiya*, 2006, pp. 52–54. (in Russ.).

* Corresponding author.

17. Tyrkov A.G., Degtyarev O.V., Akmayev E.R., Nosachev S.B. *Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2012, no. 6 (92), pp. 50–53. (in Russ.).
18. Okhremenko O.S., Vereshchagina V.V., Pavlyuchenko I.I., Basov A.A., Morgoyev A.E. *Izvestiya vuzov. Severo-Kavkazskiy region. Yestestvennyye nauki. Spetsvyypusk. Farmakologiya*, 2006, pp. 27–28. (in Russ.).
19. Sidel'nikov N.I. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornyye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv*, 2024, vol. 14(2), pp. 128–131. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-2-128-131>. (in Russ.).
20. Chang L., Zhang X.X., Ren Y.P., Cao L., Zhi X.R., Zhang L.T. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2013, vol. 75, no. 3, pp. 330–338. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.117437>.
21. Qi Y., Sun A., Renmin Liu R., Meng Zh., Xie H. *Journal of Chromatography A*, 2007, vol. 1140, no. 1-2, pp. 219–224. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.12.002>.
22. Drozd G.A., Gorbacheva L.A. *Farmatsiya*, 1994, no. 1, pp. 34–37. (in Russ.).
23. Kovaleva L.G., Nikiforova Ye.B. *Fundamental'nyye issledovaniya*, 2013, no. 10-11, pp. 2487–2490. (in Russ.).
24. *Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XV izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XV ed.]. Moscow, 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>. (in Russ.).
25. Kalashnikova O.A., Ryzhov V.M., Kurkin V.A. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2023, vol. 57, no. 3, pp. 29–34. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2023-57-3-29-34>. (in Russ.).
26. Kurkina A.V. *Flavonoidy farmakopeynykh rasteniy. Monografiya*. [Flavonoids of pharmacopoeial plants. Monograph]. Samara, 2012, 290 p. (in Russ.).
27. Kim T.H., Ku S.-K., Lee Ch., Bae J.-S. *Inflammation Research*, 2012, vol. 61, no. 3, pp. 217–224. <https://doi.org/10.1007/s00011-011-0403-9>.

Received July 21, 2024

Accepted April 17, 2025

Сведения об авторах

Куркин Владимир Александрович – заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, доктор фармацевтических наук, профессор, Kurkinvladimir@yandex.ru

Чередник Мария Константиновна – ассистент кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, m.k.cherednik@samsmu.ru

Information about authors

Kurkin Vladimir Aleksandrovich – Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Fundamentals of Phytotherapy, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Kurkinvladimir@yandex.ru

Cherednik Maria Konstantinovna – Assistant of the Department of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, m.k.cherednik@samsmu.ru