

УДК 615.322: 547.972 +543.544

СТАНДАРТИЗАЦИЯ БУТОНОВ СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ (*SOPHORA JAPONICA L.*)

© М.К. Чередник, В.А. Куркин*, А.Р. Мубинов

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 природных биологически активных соединений, в том числе флавоноидов. В научной медицине для получения лекарственных растительных препаратов используются бутоны (цветки нераспустившиеся) и плоды софоры японской. В цветках данного растения доминирующим флавоноидом является рутин (3-*O*-рутиносид кверцетина), содержание которого достигает 20–30%. Качество бутонов софоры японской регламентируется ВФС 42-341-74. Подлинность бутонов данного растения определяют качественной реакцией на флавоноиды (цианидиновая проба). Содержание рутина в лекарственном растительном сырье «Софоры японской бутоны» определяется хроматоспектрофотометрическим методом. Плоды софоры японской наряду с рутином содержат такие флавоноиды, как софорикозид (4'-*O*-β-D-глюкопиранозид генистеина), кемферол-3-*O*-софорозид и генистин (5,7,4'-тригидроксиизофлавон). Раздел «Идентификация» ФС.2.5.0130 «Софоры японской плоды» Государственной фармакопеи Российской Федерации XV издания включает определение подлинности методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) с использованием стандартного образца софорикозида.

Цель настоящего исследования – разработка методики ТСХ-анализа бутонов софоры японской для целей идентификации, а также методики количественного определения суммы флавоноидов в данном сырье. Европейская фармакопея содержит две фармакопейные статьи: «Софоры японской цветки» и «Софоры японской бутоны (цветки нераспустившиеся)». Идентификацию обоих видов сырья осуществляют по наличию флавоноидов, определяемых методом ТСХ со стандартными образцами гиперозида и рутина. Сумму флавоноидов определяют методом спектрофотометрии на длине волны 425 нм со стандартным образцом рутина.

В результате проведенных исследований разработана методика определения подлинности сырья «Бутоны софоры японской» методом ТСХ (пластины «Сорб菲尔 ПТСХ-АФ-А-УФ», система растворителей *n*-бутанол – уксусная кислота – вода очищенная в соотношении 4 : 1 : 2) со стандартными образцами рутина и кверцетина. Показано, что дифференциальная спектрофотометрия при аналитической длине 414 нм позволяет более селективно определять содержание суммы флавоноидов в бутонах софоры японской. Разработана методика количественного определения содержания суммы флавоноидов в бутонах софоры японской методом дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 414 нм с использованием фармакопейного стандартного образца рутина. Определено, что содержание суммы флавоноидов в бутонах софоры японской варьирует от 16.12 ± 1.33 до $22.37 \pm 1.33\%$ (в пересчете на рутин). Ошибка единичного определения содержания суммы флавоноидов в бутонах софоры японской с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 4.40\%$.

Ключевые слова: софора японская, *Sophora japonica L.*, бутоны, флавоноиды, рутин, кверцетин, ТСХ, спектрофотометрия, стандартизация.

Для цитирования: Чередник М.К., Куркин В.А., Мубинов А.Р. Стандартизация бутонов софоры японской (*Sophora japonica L.*) // Химия растительного сырья. 2025. №4. С. 279–290. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250415874>.

Введение

Софора японская (*Sophora japonica L.*, семейство Бобовые – *Fabaceae*) – листопадное с раскидистой кроной дерево высотой до 25 м [1, 2]. Листья данного растения крупные, непарноперистосложные светло-зеленого цвета, цветки небольшие, светло-желтые, мотыльковые в крупных метельчатых соцветиях, плоды представляют собой нераскрывающиеся приплюснуто-цилиндрические бобы до 10 см с четковидными утолщениями длиной [1–4].

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.) [1–6].

* Автор, с которым следует вести переписку.

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) (рис. 1), содержание которого достигает 20–30% [4–8]. К сопутствующим флавоноидам данного сырья относятся кверцетин (*3,5,7,3',4'*-пентагидроксифлавон) (рис. 1), кемферол-*3-O*-софорозид и гликозиды генистеина (рис. 1). Наибольшую ценность представляет рутин (рутозид), обладающий антиоксидантной, ангиопротекторной, антиагрегантной, противовоспалительной, иммуномодулирующей активностью [8–10]. Рутин как фармацевтическая субстанция широко используется для производства комбинированных лекарственных средств, в том числе Р-витаминных препаратов, эффективных при лечении многих заболеваний. Кверцетин – это флавонол (агликон рутина), который используется как монопрепарат и в комплексной терапии в качестве капилляростабилизирующего и мембраностабилизирующего средства за счет антиоксидантных свойств. Кверцетин обладает также противовоспалительным эффектом благодаря блокированию некоторых способов обмена арахидоновой кислоты, тормозит синтез серотонина, лейкотриенов и иных медиаторов воспаления, имеет проостеохластные эффекты. Кроме того, экспериментально определены такие полезные свойства кверцетина, как спазмолитическое, диуретическое и антисклеротическое действие [11–15].

Нераспустившийся цветок (бутон) софоры японской имеет яйцевидную или эллипсоидную форму длиной 7–10 мм и шириной 3–4 мм, очень тонкую и короткую цветоножку. Темно-зеленая или коричневая чашечка, образующая нижнюю часть бутона, имеет длину около 3–4 мм и состоит из 5 сросшихся чашелистиков с продольными полосками у основания. Венчик бледно-желтый или коричневато-желтый, нераскрытий, нежный, выходит за пределы чашечки и содержит 10 свободных тычинок, окружающих пестик. Раскрывшийся цветок смят, скручен, имеет очень тонкую и короткую цветоножку. Темно-зеленая или коричневая колокольчатая чашечка длиной около 3–4 мм состоит из 5 сросшихся чашелистиков с продольными бороздками у основания, разделенных на вершине на 5 слегка двугубых долей. Венчик бледно-желтый или светло-желтовато-коричневый, сосочковый, часто ломанный, размером около 10–15 мм; верхний лепесток самый крупный, округлый, с загнутой вершиной и ярко-желтым ноготком у внутреннего основания. Остальные 4 лепестка продолговатые. Вокруг цилиндрического и изогнутого центрального пестика находится 10 свободных тычинок [2, 3, 16]. Несоблюдение сроков сбора бутонов софоры японской, как и увеличение доли распустившихся цветков, снижает содержание рутина в ЛРС до 2.5 раза [16].

Европейская фармакопея содержит две фармакопейные статьи: «Софоры японской цветки» и «Софоры японской бутоны (цветки нераспустившиеся)». Идентификацию обоих видов сырья осуществляют по наличию флавоноидов, определяемых методом ТСХ со стандартными образцами гиперозида и рутина. Сумму флавоноидов определяют методом спектрофотометрии на длине волн 425 нм со стандартным образцом рутина, а содержание рутина определяют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием тригидрата рутозида и апигенина 7-глюкозида (космосиин) [16]. На наш взгляд, используемая аналитическая длина волны 425 нм недостаточна селективна, так как рутин, являющийся доминирующим флавоноидом цветков софоры японской, имеет максимум поглощения при длине волны 412 ± 2 нм. Значение длины волны 425 нм более соответствует таковому кверцетина, имеющего максимумом поглощения при длине волны 428 ± 2 нм.

В Государственную фармакопею Российской Федерации 15 издания (ГФ РФ 15 издания) включена фармакопейная статья на сырье «Софоры японской плоды» ФС.2.5.0130 (взамен ФС 42-452-72). В отношении цветков действует ВФС 42-341-74, в соответствии с которой содержание в ЛРС «Софоры японской бутоны» рутина определяется хроматоспектрофотометрическим методом и должно быть не менее 16%. Подлинность бутонов определяют качественной реакцией на флавоноиды: при добавлении цинковой пыли и концентрированной кислоты хлористоводородной к спиртовому экстракту из бутонов получают вишнево-красное окрашивание (положительная цианидиновая проба) [17].

Целью настоящего исследования является совершенствование методики определения подлинности ЛРС «Бутоны софоры японской» и методики количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской.

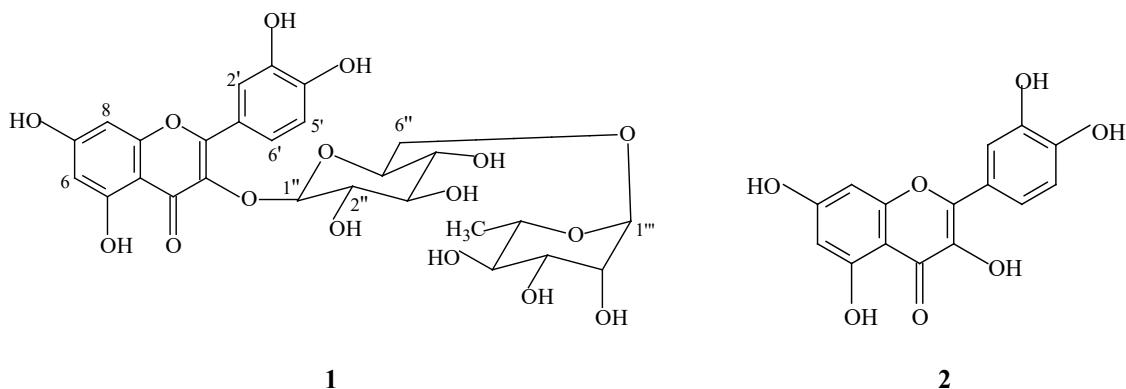


Рис. 1. Структурные формулы флавоноидов бутонов и цветков софоры японской: 1 – рутин ($3-O$ -рутинозид кверцетина); 2 – кверцетин ($3,5,7,3',4'$ -пентагидроксифлавон)

Экспериментальная часть

Материалом исследования являлись образцы нераспустившихся цветков софоры японской различных регионов и заготовителей: ООО «РТ» – ООО «Родные травы» (Республика Адыгея, Майкоп); ИП Гордеев М.В. – «Травник Гордеев» (Уфа); ООО «Старослав» (Новосибирская область, Бердск); ООО «Азбука трав» (Алтайский край, Барнаул); «ФитоКонтинент» ИП Лукьянов (Барнаул).

Идентификация образцов ЛРС проведена в соответствии с ВФС 42-341-74 «Софоры японской бутоны». В качестве материала использовали также полученные нами ранее фармакопейные стандартные образцы (ФСО) кверцетина и рутину, идентифицированные на основании данных УФ-, ¹Н-ЯМР-, ¹³С-ЯМР-спектроскопии и соответствующие требованиям ФС 2.1.0175.18 (степень чистоты – 98 и 97.5% соответственно). Кроме того, в качестве стандартных образцов использовали выделенный нами ранее генистеин, а также софорикозид (ChemWhat, степень чистоты 95%) и кемпферол-3-*O*-софорозид (ChemWhat, степень чистоты 95%).

С целью разработки метода идентификации растительного сырья применяли метод ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография») [18].

При разработке методики количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской 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 15 издания [18]. Спектральные характеристики водно-спиртовых извлечений оценивали на спектрофотометре Specord 40 (AnalytikJena AG, Германия) в диапазоне длин волн 190–500 нм, кюветы с толщиной слоя 10 мм.

Для проведения сравнительного ТСХ-анализа бутонов и плодов софоры японской осуществляли экстракцию обоих видов сырья 70% этиловым спиртом в соотношении «сырье – экстрагент» – 1 : 50 в течение 45 мин. Использовали хроматографические пластины «Сорб菲尔-ПТСХ-АФ-А-УФ» (подвижная фаза: *n*-бутанол-уксусная кислота-вода очищенная (4 : 1 : 2).

Обсуждение результатов

Для идентификации растительного сырья использовали свойство флавоноидов флуоресцировать в УФ-свете при длине волны 254 и 365 нм (после проявления хлоридом алюминия (III)). Имея разную хроматографическую подвижность, вещества растительного сырья адсорбируются на различных участках хроматографической пластины, образуя разный хроматографический профиль водно-спиртовых извлечений бутонов и плодов софоры японской, что может быть использовано, на наш взгляд, для идентификации как обоих видов ЛРС, так и экстракционных препаратов (настойки, экстракты и др.).

Сравнительный ТСХ-анализ показал, что в водно-спиртовом извлечении бутонов софоры японской доминирующим флавоноидом является рутин (рис. 2), тогда как в водно-спиртовом извлечении плодов доминируют два флавоноида – софорикозид и кемпферол-3-*O*-софорозид, причем последний компонент имеет практически одинаковое значение с таковым рутина.

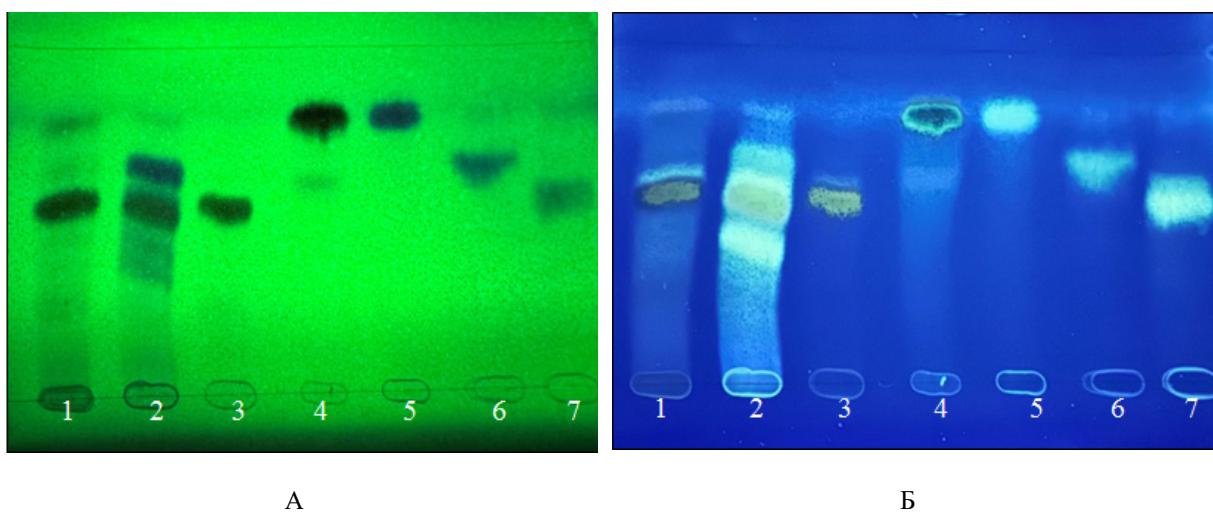


Рис. 2. ТСХ в УФ-свете при длине волн 254 нм (А) и при длине волн 365 нм после проявления алюминия хлоридом (Б): водно-спиртовое извлечение из бутонов софоры японской (1), водно-спиртовое извлечение из плодов софоры японской (2), ФСО рутина (3), ФСО кверцетина (4), СО софорикозида (5), СО кемпферол-3-*O*-софорозида (6), СО генистеина (7)

В небольших количествах в водно-спиртовых извлечениях бутонов и плодов софоры японской содержатся кверцетин и генистейн. Учитывая то обстоятельство, что кверцетин – это агликон рутина, а генистейн – агликон софорикозида, целесообразным представляется использованием данных агликонов в качестве ФСО для целей идентификации бутонов и плодов софоры японской. Факт наличия в небольших количествах агликонов позволяет подтверждать, что в сырье не прошли гидролитические процессы расщепления гликозидов, в том числе в бутонах софоры японской. Следовательно, диагностически значимым признаком для бутонов софоры японской является наличие доминирующего компонента на уровне полосы ФСО рутина (рис. 2).

Методика ТСХ-анализа бутонов софоры японской. На линию старта хроматографической пластины «Сорб菲尔-ПТСХ-АФ-А-УФ», предварительно активированной при 100–105 °C наносят в виде полос шириной 1 см по 0.03 мл испытуемого раствора, а также растворов ФСО рутина и кверцетина. Полученную хроматограмму просматривают в УФ-свете при длине волн 254 нм, а затем проявляют 3% спиртовым раствором алюминия хлорида (III) и просмотреть в УФ-свете при длине волн 365 нм. На хроматограмме испытуемого раствора обнаруживаются флуоресцирующие зоны, соответствующие ФСО рутина (доминирующее вещество) и кверцетина. При этом обнаруживаются также и другие вещества в миорных количествах.

При разработке методики количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской нами учитывалось свойство флавоноидов (флавонов и их производных – флавонолов) 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 бутонов софоры японской обнаружено два максимума поглощения в области 257 и 362 нм (рис. 3), характерные для флавонолов с замещенной 3-ОН-группой [4, 19–25]. Присутствие флавоноидов подтверждается батохромным сдвигом максимума поглощения длинноволновый полосы в электронном спектре водно-спиртового извлечения бутонов софоры японской в присутствии алюминия хлорида в область 414±2 нм (рис. 3). Максимум поглощения в электронном спектре водно-спиртового извлечения плодов софоры японской при 414±2 нм обнаруживается также и в дифференциальном варианте (рис. 4).

Изучение УФ-спектров водно-спиртового раствора ФСО рутина в условиях прямой спектрофотометрии в присутствии AlCl_3 также показало наличие батохромного сдвига максимума поглощения длинноволновый полосы в область 414±2 нм (рис. 5) и максимума поглощения в условиях дифференциальной спектрофотометрии при 414±2 нм (рис. 6).

Сравнительное изучение УФ-спектров водно-спиртового извлечения из бутонов софоры японской и раствора ФСО рутина в условиях прямой спектрофотометрии в присутствии AlCl_3 показало, что максимумы длинноволновых полос поглощения в обоих случаях находятся при длине волны 414±2 нм (рис. 7). Следовательно, именно рутин определяет спектральные характеристики водно-спиртового извлечения бутонов софоры японской.

Это позволяет рекомендовать использование в методике количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской в качестве ФСО рутин, имеющий в условиях дифференциальной спектрофотометрии, как и водно-спиртовое извлечение плодов софоры японской, максимум поглощения при 414 ± 2 нм.

В ходе разработки методики количественного определения суммы флавоноидов определены оптимальные условия экстракции флавоноидов из цветков софоры японской: экстрагент 70% этиловый спирт; соотношение «сырье-экстрагент» – 1 : 50; время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане в течение 45 мин, степень измельчения сырья – фракция, проходящая через сито с диаметром отверстий 2 мм, с последующим отделением фракции, проходящей через сито с диаметром отверстий 1 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 погрешность определения меньше при использовании 70% спирта. Увеличение времени экстракции более 45 мин, более тонкое измельчение (1 мм) и увеличение соотношения более 1 : 50 не дает значимого повышения полноты извлечения флавоноидов. Фильтрация извлечения фракции 1 мм затруднена. При условиях извлечения, предложенных производителями ЛРС (экстрагирование горячей водой цельного сырья), теряется до 50% флавоноидов.

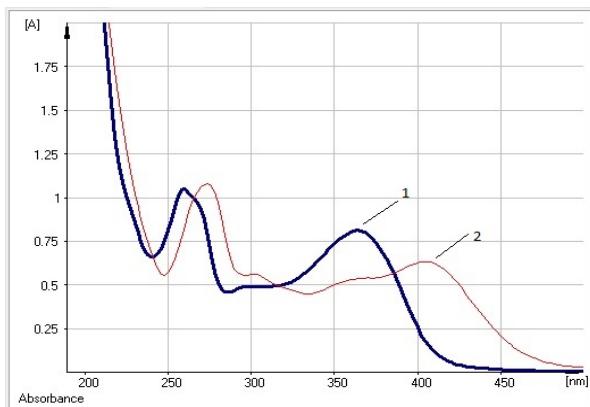


Рис. 3. Электронные спектры раствора водно-спиртового извлечения бутонах софоры японской (1) и водно-спиртового извлечения бутонах софоры японской в присутствии алюминия хлорида (2)

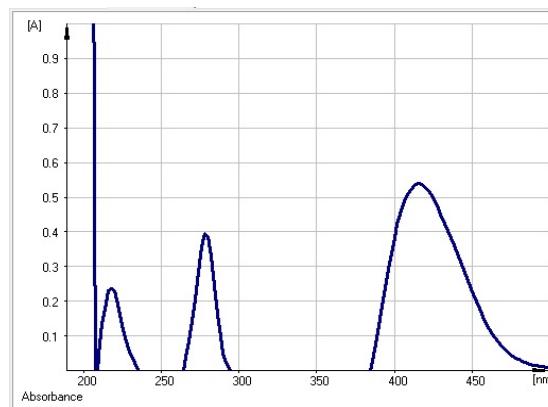


Рис. 4. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения бутонах софоры японской (дифференциальный вариант)

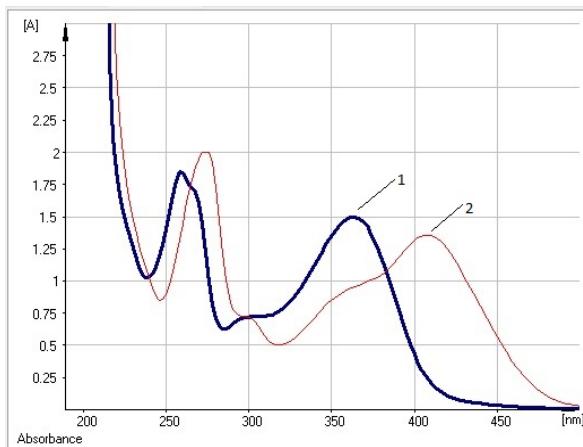


Рис. 5. Электронные спектры спиртового раствора ФСО рутина (1) и спиртового раствора рутина в присутствии алюминия хлорида (2)

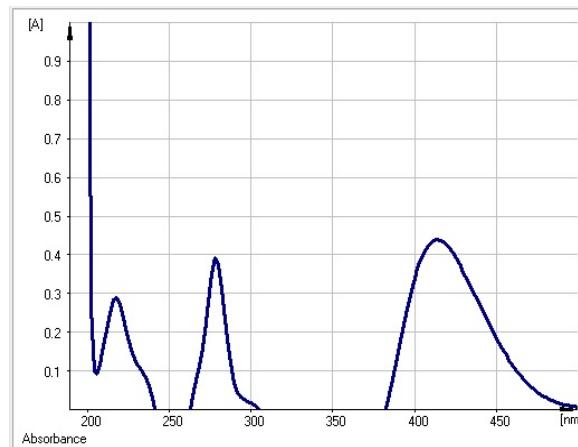


Рис. 6. Электронный спектр раствора спиртового раствора ФСО рутина (дифференциальный вариант)

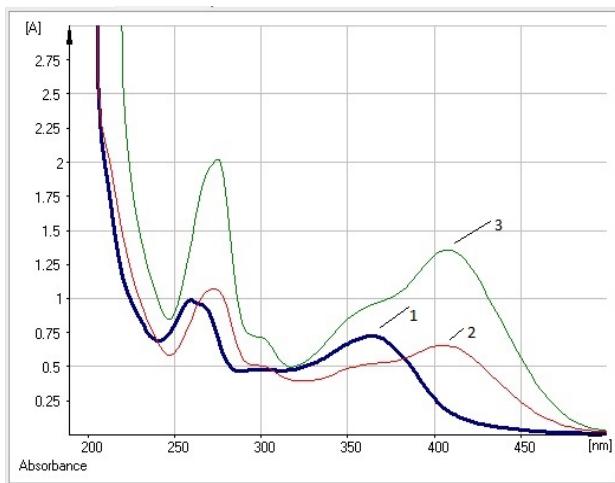


Рис. 7. Электронные спектры раствора водно-спиртового извлечения бутонов софоры японской (1), водно-спиртового извлечения бутонов софоры японской в присутствии алюминия хлорида (2) и спиртового раствора ФСО рутина в присутствии алюминия хлорида (3)

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

Экстрагент	Соотношение «сырье-экстрагент»	Время экстракции, мин	Степень измельчения, мм	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье, %
Экстрагент				
вода очищенная	1 : 50	45	2	11.35±0.20
30% этанол	1 : 50	45	2	20.54±0.23
40% этанол	1 : 50	45	2	20.58±0.25
50% этанол	1 : 50	45	2	21.44±0.25
60% этанол	1 : 50	45	2	21.53±0.23
70% этанол	1 : 50	45	2	21.68±0.29
80% этанол	1 : 50	45	2	20.79±0.29
96% этанол	1 : 50	45	2	13.48±0.21
Время экстракции				
70% этанол	1 : 50	5	2	17.23±0.29
70% этанол	1 : 50	15	2	20.38±0.29
70% этанол	1 : 50	30	2	22.17±0.29
70% этанол	1 : 50	45	2	22.97±0.29
70% этанол	1 : 50	60	2	21.43±0.29
70% этанол	1 : 50	90	2	20.04±0.29
70% этанол	1 : 50	120	2	20.37±0.29
Степень измельчения				
70% этанол	1 : 50	45	1	23.05±0.29
70% этанол	1 : 50	45	2	22.97±0.29
70% этанол	1 : 50	45	3	21.95±0.29
70% этанол	1 : 50	45	цельное сырье	17.81±0.29
Соотношение «сырье: экстрагент»				
70% этанол	1 : 30	45	2	19.82±0.29
70% этанол	1 : 50	45	2	22.87±0.29
70% этанол	1 : 100	45	2	22.95±0.29

Методика количественного определения суммы флавоноидов в бутонах 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 45 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).

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 волнны 414 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 рутина. Около 0.0050 г (точная навеска) ФСО рутина 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 рутина). Далее 2 мл полученного раствора А ФСО рутина 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 рутина), тщательно перемешивают, выдерживают 30 мин для образования окрашенных желтым цветом комплексов рутина с алюминия хлоридом. Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора Б ФСО рутина на спектрофотометре при длине волнны 414 нм на фоне раствора сравнения ФСО рутина.

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

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) 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; D₀ – оптическая плотность раствора ФСО рутина; m – масса сырья, г; m₀ – масса ФСО рутина, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

В случае отсутствия ФСО рутина целесообразно использовать рассчитанное значение удельного показателя поглощения при 414 нм – 226:

$$X = \frac{D \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{m \cdot 2 \cdot 226 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 226 – удельный показатель поглощения (E_{1cm}^{1%}) ФСО рутина при 414 нм; W – потеря в массе при высушивании, %.

Критерием оценки аналитической методики является валидационная оценка. Валидацию методики проводили в соответствии с ГФ РФ 15 издания [18].

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

Линейность методики определяли для серии водно-спиртовых растворов ФСО рутина (с концентрациями в диапазоне от 0.0052 до 0.0520 мг/мл) при длине волнны 414 нм. На основании полученных данных строили график зависимости значений оптической плотности от концентрации водно-спиртовых растворов ФСО рутина и рассчитывали уравнение линейной регрессии (табл. 2, рис. 8).

Также линейность методики определили для серии извлечений бутонов софоры японской 70% спиртом (с концентрациями флавоноидов по рутину в диапазоне от 0.0108 до 0.0395 мг/мл) при длине волнны 414 нм (табл. 3, рис. 9).

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

Концентрация водно-спиртового раствора рутина, мг/мл	Значение оптической плотности, е.о.п. (среднее значение из четырех последовательных измерений)
0.0052	0.1051
0.0104	0.2196
0.0208	0.4386
0.0520	1.1640

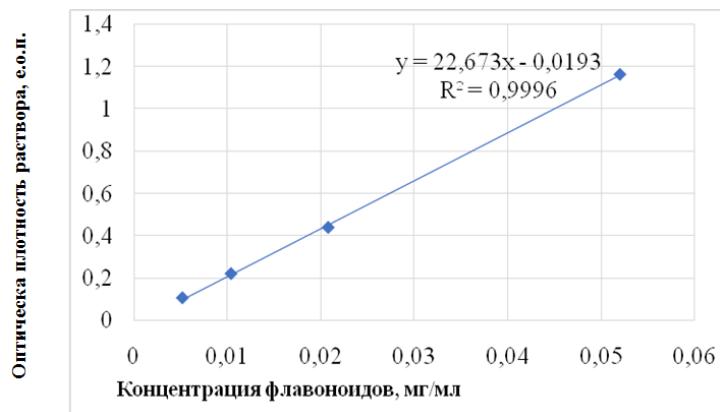


Рис. 8. Зависимости оптической плотности от концентрации водно-спиртовых растворов ФСО рутина

Таблица 3. Исходные данные для оценки линейности методики по серии извлечений бутонов софоры японской 70% этианолом

Концентрация флавоноидов водно-спиртового извлечения бутонов софоры японской, мг/мл	Значение оптической плотности, е.о.п. (среднее значение из четырех последовательных измерений)
0.0395	0.8212
0.024	0.498
0.0108	0.224

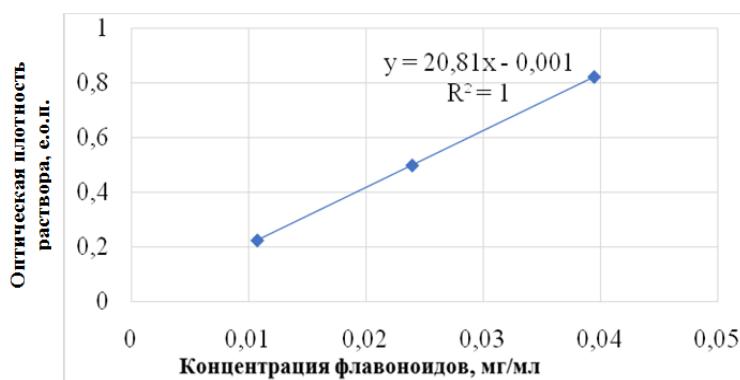


Рис. 9. Зависимость оптической плотности от концентрации флавоноидов в водно-спиртовых извлечениях бутонов софоры японской

Метрологические характеристики разработанной методики количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской представлены в таблице 4.

Ошибка единичного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 4.40\%$ (табл. 4).

Установлено, что среднее содержание суммы флавоноидов в исследуемом образце сырья составило 21.18% (относительная погрешность определения составила $\pm 0.28\%$).

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 рутин в бутонах софоры японской.

Определено, что сумма флавоноидов в пересчете на рутин в образцах цветков софоры японской различных регионов и заготовителей варьирует от 16.12 ± 1.33 до $22.37 \pm 1.33\%$ (табл. 5).

Таблица 4. Результаты оценки прецизионности методики количественного определения суммы флавоноидов в бутонах софоры японской (уровень повторяемости)

Метрологическая характеристика	n	f	\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	P, %	T(P,t) (табл.)	Δx	$\Delta \bar{x}$	E, %	$\bar{\epsilon}, %$
Значение	11	10	21.18	0.42	0.13	95	2.23	± 0.93	0.28	± 4.40	± 1.33

Таблица 5. Содержание суммы флавоноидов в образцах цветков софоры японской (в %) в пересчете на рутин

№	Характеристика образца сырья	Содержание суммы флавоноидов в образцах цветков (бутонов) софоры японской (в %) в пересчете на рутин
1	ООО «РТ» – ООО «Родные травы», Республика Адыгея, Майкоп Дата сбора: 06.2023 г.	22.37 ± 1.33
2	ИП Гордеев М.В. – «Травник Гордеев», Уфа Дата сбора: 07.2022 г.	21.18 ± 1.33
3	ООО «Старослав», Новосибирская область, Бердск Дата сбора: 06.2023 г.	20.88 ± 1.33
4	ООО «Азбука трав», Алтайский край, Барнаул Дата сбора: 06.2023 г.	16.12 ± 1.33
5	«ФитоКонтинент» ИП Лукьянов, Барнаул	19.34 ± 1.33

Выходы

1. Разработана методика определения подлинности сырья «Бутоны софоры японской» методом ТСХ (пластины «Сорб菲尔 ПТСХ-АФ-А-УФ», система растворителей *n*-бутанол-уксусная кислота-вода очищенная в соотношении 4 : 1 : 2) со стандартными образцами рутина и кверцетина.
2. Выявлено, что хроматографический профиль сырья «Бутоны софоры японской» возможно использовать для идентификации и стандартизации экстракционных препаратов из данного сырья.
3. Определено, что аналитическая длина волны спиртового раствора рутина в условиях дифференциальной спектрофотометрии, как и водно-спиртового извлечения бутона софоры японской, – 414 нм.
4. Определено, что содержание суммы флавоноидов в бутонах софоры японской варьирует от 16.12 ± 1.33 до $22.37 \pm 1.33\%$ (в пересчете на рутин). Погрешность единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 4.40\%$.
5. Результаты валидационной оценки по показателям специфичность, линейность, проведенные в соответствии с ГФ РФ 15 издания, позволяют сделать вывод о пригодности использования данной методики для количественной определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в бутонах софоры японской.
6. Полученные результаты исследования могут быть использованы при разработке разделов «Идентификация» и «Количественное определение» ФС «Софороны японской бутоны» для внедрения в Государственную фармакопею Российской Федерации.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Самарский государственный медицинский университет. 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.; Ленинград., 1954. Т. 21. С. 23.
2. *Sophora japonica* L. – Софора японская, Японская акация. Справочник растений. [Электронный ресурс] URL: https://plant_directory.academic.ru/2386/SOPHORA_JAPONICA_L.
3. Лавренов В.К., Лавренов Г.В. Полная энциклопедия лекарственных растений. М., 1999. 267 с.

4. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов), 5-е изд. перераб. и доп. Самара, 2020. 1278 с.
5. Ковалева Л.Г., Сампиева 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.
6. 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. №139. С. 107–115.
7. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск, 1990. 336 с.
8. Справочник Видаль «Лекарственные препараты в России» [Электронный ресурс]. URL: <https://www.vidal.ru>.
9. 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.
10. Леонтьева Н.В. Флавоноиды-природные антиоксиданты // Журнал Казахско-Российского медицинского университета. 2024. С. 44–50. <https://doi.org/10.24412/2790-1289-2024-1-44-50>.
11. Куркин В.А. Фенилпропаноиды – перспективные природные биологически активные соединения. Самара, 1996. 80 с.
12. 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>.
13. Кулагин О.Л. Антиоксидантная активность некоторых фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды // Фармация. 2007. №2. С. 30–32.
14. Куркин В.А., Петрухина И.К., Акушская А.С. Исследование номенклатуры адаптогенных лекарственных препаратов, представленных на фармацевтическом рынке Российской Федерации // Фундаментальные исследования. 2014. №8 (4). С. 898–902.
15. Зайцева Е.Н., Дубиццев А.В., Куркин В.А. Анализ влияния рутина и гравитационного воздействия на выделительную функцию почек // Наука и инновации в медицине. 2016. Т. 1, №4. С. 47–50.
16. Европейская фармакопея 8 издания [Электронный ресурс]. URL: http://www.fptl.ru/biblioteka/farmakopei/evropeyskaya_farmakopeya_8_vols-1.pdf.
17. ВФС 42-341-74 «Софоры японской бутоны».
18. Государственная фармакопея Российской Федерации 15 издания. М., 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>.
19. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений. Монография. Самара: издательство ОФОРТ, 2012. 290 с.
20. Chang L., Zhang X.X., Ren Y.P., Cao L.R., Zhi X., Zhang L.T. Simultaneous Quantification of Six Major Flavonoids From Fructus sophorae by LC-ESI-MS/MS and Statistical Analysis // Indian J. Pharm. Sci. 2013. Vol. 75, no. 3. Pp. 330–338. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.117437>.
21. Куркин В.А. Современные аспекты химической классификации биологически активных соединений лекарственных растений // Фармация. 2002. №2. С. 8–16.
22. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Авдеева Е.В., Ежков В.Р. Фенилпропаноиды лекарственных растений. Самара, 2005. 128 с.
23. Qi Y., Sun A. 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. Pp. 219–224.
24. 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.
25. Киселева Т.Л., Смирнова Ю.А. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества. М., 2009. 295 с.

Поступила в редакцию 25 сентября 2024 г.

После переработки 26 октября 2024 г.

Принята к публикации 9 октября 2025 г.

Cherednik M.K., Kurkin V.A., Mubinov A.R.* STANDARDIZATION OF FLOWER BUDS OF JAPANESE SOPHORA (*SOPHORA JAPONICA* L.)

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

Japanese sophora (*Sophora japonica* L., family *Fabaceae*) is a unique source of natural biologically active compounds, including flavonoids. In scientific medicine the flower buds (unblown flowers) and fruits of *Sophora japonica* are used to obtain medicinal herbal preparations. The dominant flavonoid in the flowers of this plant is rutin (3-O-rutinoside of quercetin), the content of which reaches 20–30%. The quality of the flower buds of *Sophora japonica* is regulated by VFS 42-341-74. The authenticity of the flower buds of this plant is determined by a qualitative reaction to flavonoids (cyanidin test). The content of rutin in the medicinal plant material "*Sophora japonica* flower buds" is determined by the chromatospectrophotometric method. In addition to rutin, *Sophora japonica* fruits contain such flavonoids as sophoricoside (4'-O- β -D-glucopyranoside of genistein), kaempferol-3-O-sophoroside and genistein (5,7,4'-trihydroxyisoflavone). The "Identification" section of FS.2.5.0130 "*Sophora japonica* fruits" of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 15th edition includes determination of authenticity by thin-layer chromatography (TLC) using a standard sample of sophoricoside.

The aim of this study is to develop a TLC analysis method for *Sophora japonica* flowers for identification purposes, as well as a method for quantitative determination of the amount of flavonoids in this raw material. The European Pharmacopoeia contains two pharmacopocial monographs: "*Sophora japonica* flowers" and "*Sophora japonica* flowers (unblown flowers)". Identification of both types of raw materials is carried out based on the presence of flavonoids determined by TLC with standard samples of hyperoside and rutin. The amount of flavonoids is determined by spectrophotometry at a wavelength of 425 nm with a standard sample of rutin.

As a result of conducted research it was developed the method for determination of the authenticity of the raw material "*Sophora japonica* flower buds" has also been developed using the TLC method (Sorbfil PTSKh-AF-A-UV plates, a solvent system of *n*-butanol-acetic acid-distilled water in a ratio of 4:1:2) with standard samples of rutin and quercetin. It has been shown that differential spectrophotometry at an analytical wavelength of 414 nm allows for a more selective determination of the total flavonoid content in *Sophora japonica* flower buds. A technique has been developed for quantitative determination of the total flavonoid content in *Sophora japonica* flower buds by differential spectrophotometry at an analytical wavelength of 414 nm using a pharmacopoeial standard sample of rutin. It has been determined that the total flavonoid content in *Sophora japonica* flower buds varies from 16.12±1.33 to 22.37±1.33% (calculated on rutin). The error of a single determination of the total flavonoid content in the flower buds of *Sophora japonica* with a confidence level of 95% is ±4.40%.

Keywords: Japanese sophora, *Sophora japonica* L., flower buds, flavonoids, rutin, quercetin, TLC, spectrophotometry, standardization.

For citing: Cherednik M.K., Kurkin V.A., Mubinov A.R. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2025, no. 4, pp. 279–290. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250415874>.

References

1. *Flora SSSR* [Flora of the USSR], ed. B.K. Shishkin. Moscow, Leningrad, 1954, vol. 21, p. 23. (in Russ.).
2. *Sophora japonica* L. – *Sofora yaponskaya, Yaponskaya akatsiya. Spravochnik rasteniy.* [Sophora japonica L. – Japanese pagoda tree, Japanese acacia. Plant reference book] URL: https://plant_directory.academic.ru/2386/SOPHORA_JAPONICA_L. (in Russ.).
3. Lavrenov V.K., Lavrenov G.V. *Polnaya entsiklopediya lekarstvennykh rasteniy.* [Complete encyclopedia of medicinal plants]. Moscow, 1999, 267 p. (in Russ.).
4. Kurkin V.A. *Farmakognoziya: uchebnik dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov (fakul'tetov), 5-ye izd. pererab. i dop.* [Pharmacognosy: a textbook for students of pharmaceutical universities (faculties), 5th ed., revised and expanded]. Samara, 2020, 1278 p. (in Russ.).
5. Kovaleva L.G., Sampiyeva A.M., Khovacha M.R., Nikiforova Ye.B. *Nauchnyye vedomosti. Seriya Meditsina. Farmatsiya*, 2012, no. 22 (141), p. 163. (in Russ.).
6. Paliy A.Ye., Grebennikova O.A., Rabotyagov V.D., Paliy I.N. *Biologiya rasteniy i sadovodstvo: teoriya, innovatsii*, 2014, no. 139, pp. 107–115. (in Russ.).
7. Georgiyevskiy V.P., Komissarenko N.F., Dmitruk S.Ye. *Biologicheski aktivnyye veshchestva lekarstvennykh rasteniy.* [Biologically active substances of medicinal plants]. Novosibirsk, 1990, 336 p. (in Russ.).
8. *Spravochnik Vidal' «Lekarstvennyye preparaty v Rossii»* [Vidal's Handbook "Medicines in Russia"]. URL: <https://www.vidal.ru>. (in Russ.).
9. Kurkin V.A., Avdeyeva Ye.V., Kurkina A.V., Galyamova V.R. *Farmatsiya i farmakologiya*, 2016, vol. 4, no. 2, pp. 26–40. (in Russ.).
10. Leont'yeva N.V. *Zhurnal Kazakhsko-Rossiyskogo meditsinskogo universiteta*, 2024, pp. 44–50. <https://doi.org/10.24412/2790-1289-2024-1-44-50>. (in Russ.).
11. Kurkin V.A. *Fenilpropanoidy – perspektivnyye prirodnyye biologicheski aktivnyye soyedineniya.* [Phenylpropanoids – promising natural biologically active compounds]. Samara, 1996, 80 p. (in Russ.).
12. 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.).
13. Kulagin O.L. *Farmatsiya*, 2007, no. 2, pp. 30–32. (in Russ.).
14. Kurkin V.A., Petrukhina I.K., Akushskaya A.S. *Fundamental'nyye issledovaniya*, 2014, no. 8 (4), pp. 898–902. (in Russ.).

* Corresponding author.

15. Zaytseva Ye.N., Dubishchev A.V., Kurkin V.A. *Nauka i innovatsii v meditsine*, 2016, vol. 1, no. 4, pp. 47–50. (in Russ.).
16. *Yevropeyskaya farmakopeya 8 izdaniya* [European Pharmacopoeia 8th edition]. URL: http://www.fptl.ru/biblioteca/farmakopei/evropeyskaya_farmakopeya_8_vol-1.pdf. (in Russ.).
17. *VFS 42-341-74 «Sofory yaponskoy butony»*. [VFS 42-341-74 "Japanese Sophora buds"]. (in Russ.).
18. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii 15 izdaniya*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 15th edition]. Moscow, 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>. (in Russ.).
19. Kurkina A.V. *Flavonoidy farmakopeynykh rasteniy. Monografiya*. [Flavonoids of pharmacopoeial plants. Monograph]. Samara, 2012, 290 p. (in Russ.).
20. Chang L., Zhang X.X., Ren Y.P., Cao L.R., Zhi X., Zhang L.T. *Indian J. Pharm. Sci.*, 2013, vol. 75, no. 3, pp. 330–338. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.117437>.
21. Kurkin V.A. *Farmatsiya*, 2002, no. 2, pp. 8–16. (in Russ.).
22. Kurkin V.A., Zapesochnaya G.G., Avdeyeva Ye.V., Yezhkov V.R. *Fenilpropanoidy lekarstvennykh rasteniy*. [Phenylpropanoids of medicinal plants]. Samara, 2005, 128 p. (in Russ.).
23. Qi Y., Sun A. *Journal of Chromatography A*, 2007, vol. 1140, pp. 219–224.
24. 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.).
25. Kiseleva T.L., Smirnova Yu.A. *Lekarstvennyye rasteniya v mirovoy meditsinskoy praktike: gosudarstvennoye regulirovaniye nomenklatury i kachestva*. [Medicinal plants in world medical practice: state regulation of nomenclature and quality]. Moscow, 2009, 295 p. (in Russ.).

Received September 25, 2024

Revised October 26, 2024

Accepted October 9, 2025

Сведения об авторах

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

Куркин Владимир Александрович – заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, доктор фармацевтических наук, профессор, [Kurkinvladimir@yandex.ru](mailto>Kurkinvladimir@yandex.ru)

Мубинов Артур Рустемович – главный специалист научно-образовательного центра «Фармация», кандидат фармацевтических наук, a.r.mubinov@samsmu.ru

Information about authors

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

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

Mubinov Artur Rustemovich – Chief Specialist, Scientific and Educational Center "Pharmacy", PhD, a.r.mubinov@samsmu.ru