

УДК 615.322

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2021.21.12.005>

## РАЗРАБОТКА МЕТОДА СТАНДАРТИЗАЦИИ ТРАВЫ БОДЯКА ПОЛЕВОГО ПО СОДЕРЖАНИЮ ФЛАВОНОИДОВ

**К.А. Пупыкина**, доктор фарм. наук, профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (ФГБОУ ВО «БГМУ»), г. Уфа, [puropkinaka@gmail.com](mailto:puropkinaka@gmail.com)

**С.Р. Шамсутдинова**, аспирант кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (ФГБОУ ВО «БГМУ»), г. Уфа, [svetashamsutdinova@yandex.ru](mailto:svetashamsutdinova@yandex.ru)

**Л.В. Старцева**, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (ФГБОУ ВО «БГМУ»), г. Уфа, [ludmila-web@list.ru](mailto:ludmila-web@list.ru)

В статье представлены результаты разработки метода стандартизации травы бодяка полевого по содержанию флавоноидов. Изучены условия количественного определения флавоноидов растения и подобраны оптимальные параметры экстракции, такие как концентрация экстрагента, соотношение сырья и экстрагента, степень измельченности, время и кратность экстракции, концентрация и количество добавляемой комплексобразующей добавки. Установлено, что наилучшим экстрагентом для травы бодяка полевого является спирт этиловый в концентрации 40%, соотношение сырья и экстрагента – 1:30, степень измельченности – 2 мм, оптимальное время экстракции – 30 минут при трехкратной экстракции. Установлено, что доминирующим веществом является апигенин, на который предлагается вести пересчет, и аналитическая длина волны для количественного определения флавоноидов составляет  $388 \pm 2$  нм.

**Ключевые слова:** бодяк полевой, трава, флавоноиды, апигенин, количественное определение

Лекарственные растения все больше привлекают внимание исследователей и практической медицины, так как обладают широким спектром фармакологической активности и могут эффективно применяться для профилактики и лечения различных заболеваний. Возможность рационального сочетания лекарственных растений как между собой, так и с синтетическими препаратами для усиления лечебного эффекта, их мягкость действия, редкое проявление побочных эффектов являются основными преимуществами лекарственных растений. В этом плане перспективным для изучения лекарственным растением является бодяк полевой *Cirsium arvense* (L.) семейства астровых (*Asteraceae*), который широко применяется в народной медицине как противовоспалительное, антиоксидантное и противомикробное средство, его используют в качестве средства от подагры и ревматизма, наружно при кожных заболеваниях, применяют при различных нервных заболеваниях, эпилепсии, болезнях пищеварительной системы [2,3].

**Цель** исследования – разработка метода стандартизации травы бодяка полевого по содержанию флавоноидов.

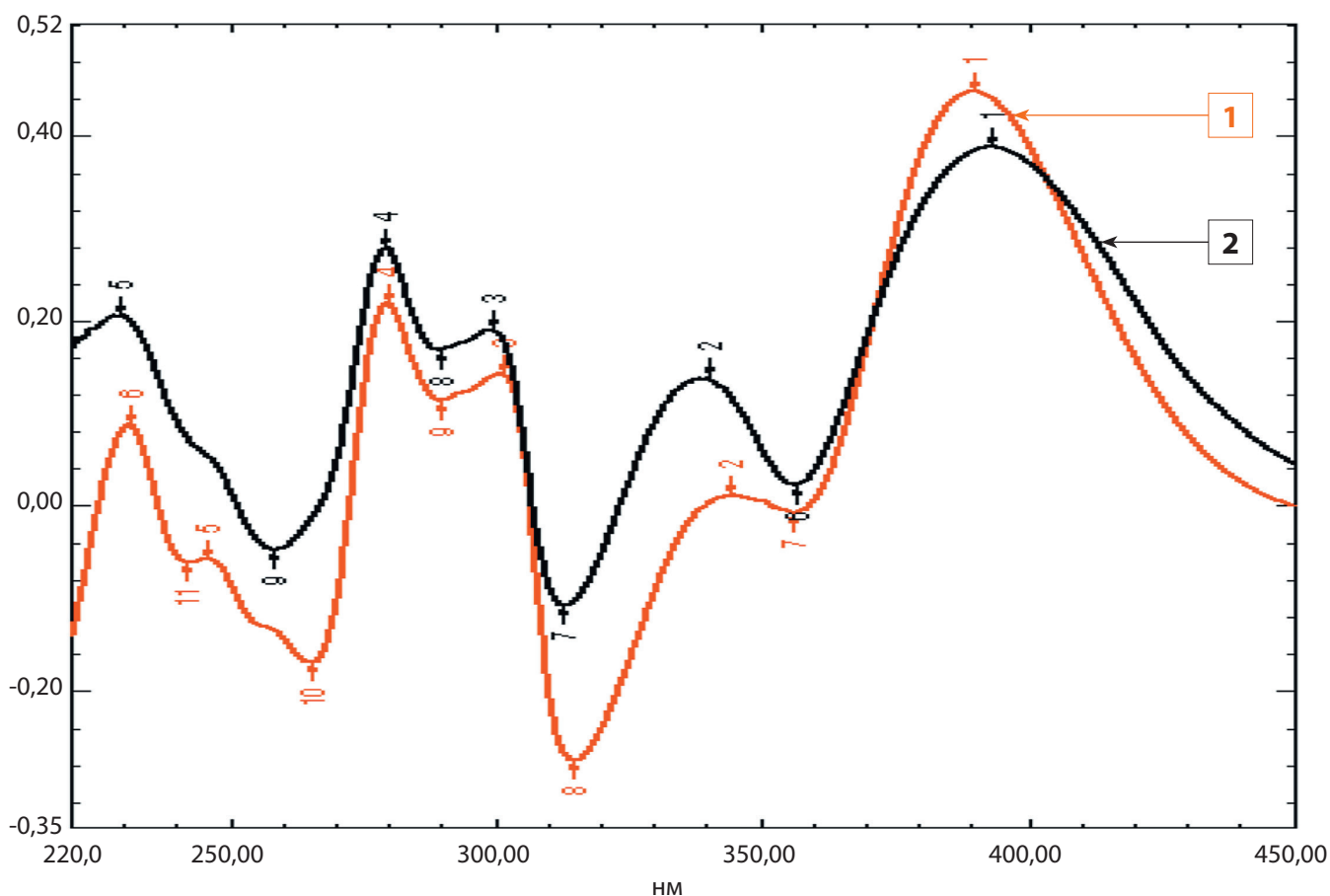
## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали образцы травы бодяка полевого, заготовленного на территории Республики Башкортостан.

Количественное определение флавоноидов проводили методом дифференциальной спектрофотометрии в ультрафиолетовой области на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 с подбором оптимальных параметров экстракции: экстрагент, соотношение сырья и экстрагента, степень измельченности, время и кратность экстракции, условия проведения реакции комплексообразования. Статистическая обработка данных проводилась в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ [1].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При разработке методики количественного определения флавоноидов в траве бодяка полевого использован метод дифференциальной спектрофотометрии с подбором оптимальных условий проведения [4,5]. В ходе эксперимента были изучены спектры поглощения спиртовых растворов травы бодяка полевого, а также растворов с добавлением комплексообразующей добавки – раствора алюминия хлорида (III), чтобы исключить влияние сопутствующих веществ. С раствором алюминия хлорида флавоноиды образуют комплексы, устойчивые в кислой среде, и наблюдается батохромный сдвиг с четко выраженными максимумами поглощения (рис. 1).



**РИС. 1.** Дифференциальные спектры:

1 – вещества стандарта – апигенина; 2 – извлечения из травы бодяка полевого с добавлением раствора алюминия хлорида ( $\lambda_{\text{max}}=388\pm 2$  нм)

Было установлено, что спектр поглощения травы бодяка полевого имеет близкий максимум к спектру апигенина ( $\lambda_{\max} = 388 \pm 2$  нм), поэтому этот флавоноид был выбран в качестве основного в сумме, на который в дальнейшем предлагается вести пересчет. Полученные данные согласовывались с результатами ранее проведенного хроматографического анализа спиртовых извлечений из сырья бодяка полевого.

На следующем этапе необходимо было подобрать условия экстракции флавоноидов, которые обеспечивали бы максимальный их выход из сырья бодяка полевого, а именно: концентрация экстрагента, измельченность сырья (так как размер частиц сырья влияет на полноту и скорость перехода в раствор исследуемых веществ), соотношение сырья и экстрагента, время и кратность экстракции.

При сравнительной оценке влияния экстрагента на выход флавоноидов был использован спирт этиловый различной концентрации. В полученных извлечениях определяли оптическую плотность в интервале длин волн, характерных для флавоноидов, и рассчитывали содержание флавоноидов (табл. 1). В результате было установлено, что оптимальным экстрагентом, при использовании которого наблюдались более высокие показатели содержания флавоноидов, является спирт этиловый 40%-

Таблица 1

**ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАГЕНТА НА ВЫХОД ФЛАВНОИДОВ**

Концентрация спирта этилового	Оптическая плотность (D ср.)	Содержание флавоноидов, %
40%	0,528±0,025	2,89±0,14
50%	0,427±0,022	2,73±0,12
70%	0,425±0,019	2,68±0,11
80%	0,376±0,017	2,51±0,09
90%	0,364±0,008	2,46±0,07

ный, который и был выбран для дальнейших исследований.

Результаты исследований по выбору степени измельченности сырья, времени экстракции, соотношения сырья и экстрагента, кратности экстракции представлены в табл. 2.

Согласно полученным данным, оптимальной является измельченность сырья до размера

Таблица 2

**ВЛИЯНИЕ ПАРАМЕТРОВ ЭКСТРАКЦИИ НА ВЫХОД ФЛАВНОИДОВ**

Наименование параметра	Содержание флавоноидов, %	
<b>Измельченность сырья, мм</b>		
1 мм	2,77±0,13	
2 мм	2,84±0,18	
3 мм	2,69±0,10	
<b>Время экстракции, мин.</b>		
15	2,64±0,07	
30	2,88±0,12	
45	2,75±0,09	
60	2,59±0,07	
90	2,39±0,04	
<b>Соотношение сырья и экстрагента</b>		
1:30	2,84±0,12	
1:50	2,77±0,10	
1:100	2,68±0,08	
<b>Кратность экстракции</b>		
1:30	однократная	2,72±0,03
	двукратная	2,88±0,05
	трехкратная	2,92±0,06
1:50	однократная	2,64±0,04
	двукратная	2,75±0,07
	трехкратная	2,79±0,11
1:100	однократная	2,59±0,04
	двукратная	2,62±0,05
	трехкратная	2,68±0,02

частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, время экстракции, при котором происходит максимальное извлечение флавоноидов, – 30 минут, соотношение сырья и экстрагента – 1:30 и трехкратная экстракция обеспечивает наиболее полное извлечение флавоноидов из сырья бодяка полевого.

Для установления оптимальных параметров влияния комплексообразователя на концентрацию флавоноидов были изучены концентрация спиртового раствора алюминия хлорида и его количество, добавляемое к извлечению (табл. 3).

Анализируя полученные данные, можно отметить, что наиболее оптимальным является использование 2%-го раствора алюминия хлорида в количестве 1 мл. При оценке стабильности образующегося комплекса было установлено, что реакция комплексообразования развивается в течение 45 минут и комплекс остается стабильным в течение часа.

На основании проведенных исследований предложена методика количественного определения флавоноидов в траве бодяка полевого: аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм. Около 1 г (точная навеска) сырья помещают в колбу термостойкого стекла со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 30 мл 40%-го спирта этилового, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30

минут. Затем полученное извлечение осторожно фильтруют через вату в мерную колбу на 100 мл, избегая попадания частиц сырья в воронку. К оставшемуся в колбе сырью прибавляют 30 мл 40%-го спирта этилового и вату, через которую фильтровали, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане еще 30 минут. Содержимое колбы фильтруют в мерную колбу с первой порцией извлечения через вату. Процесс повторяют еще один раз по вышеизложенной схеме. Полученное извлечение доводят в мерной колбе до 100 мл этим же растворителем (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора А, прибавляют 1 мл 2%-го спиртового раствора хлорида алюминия и доводят раствор до метки 95%-ным этиловым спиртом (раствор В). Через 45 минут измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 389 нм в кювете толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А, 1 капли раствора разведенной уксусной кислоты, доведенный 95%-ным этиловым спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность комплекса раствора стандартного образца апигенина с раствором алюминия хлорида: к 1 мл 0,05%-го раствора апигенина прибавляют 1 мл 2%-го спиртового раствора алюминия хлорида и доводят раствор этиловым спиртом

Таблица 3

### ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАТЕЛЯ НА ВЫХОД ФЛАВОНОИДОВ

Исследуемый образец	Содержание флавоноидов, %				
	Концентрация алюминия хлорида				
	1%	2%	3%	5%	10%
Трава бодяка	2,63±0,09	2,78±0,12	2,66±0,10	2,54±0,08	2,48±0,09
	Количество добавляемого алюминия хлорида				
	1 мл	2 мл	3 мл	5 мл	10 мл
	2,80±0,11	2,68±0,09	2,54±0,08	2,51±0,06	2,44±0,05

Таблица 4

**МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ БОДЯКА**

Исследуемый объект	f	$\bar{x}$	s <sup>2</sup>	S <sub>x</sub>	P, %	t(P, f)	E <sub>a</sub>	ε, %
Трава бодяка	5	2,78	0,000038	0,0019	95	2,57	0,09	3,23

95%-ным до 25 мл в мерной колбе. Измерения проводят аналогично испытуемому раствору.

Содержание суммы флавоноидов (X) в пересчете на апигенин и абсолютно сухое сырье (в %) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times a_0 \times 100 \times 1 \times 25 \times 100 \times 100}{A_0 \times a \times 25 \times 1 \times (100 - W)},$$

где A – оптическая плотность анализируемого раствора (раствор B); A<sub>0</sub> – оптическая плотность комплекса стандартного образца апигенина с алюминия хлоридом; a – навеска сырья в граммах; a<sub>0</sub> – навеска стандартного образца апигенина в граммах; W – потеря в массе сырья при высушивании, %.

Метрологическая характеристика методики количественного определения флавоноидов в траве бодяка полевого представлена в табл. 4, ошибка опыта не превышала предельно допустимых значений.

**ВЫВОДЫ**

1. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в траве бодяка полевого методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на апигенин (λ<sub>max</sub> = 388 ± 2 нм).

2. Установлены оптимальные параметры экстракции флавоноидов в сырье бодяка полевого: экстрагент – спирт этиловый в концентрации 40%, соотношение сырья и экстрагента – 1:30, степень измельченности – 2 мм, время экстракции – 30 минут при трехкратной

экстракции, концентрация комплексообразователя – 2%, количество добавляемого комплексообразователя – 1 мл.

3. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на апигенин составляет 2,78 ± 0,09%.

**БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

1. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания [Электронный ресурс] // Федеральная электронная медицинская библиотека, 2018. – Режим доступа: <http://www.femb.ru>.
2. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Т. 3. Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные) / И.А. Губанов, К.В. Киселёва, В.С. Новиков, В.Н. Тихомиров. – М.: Изд-во КМК, Институт технологических исследований. – 2004. – 520 с.
3. Красноборов И.М. Род Бодяк *Cirsium* Mill – Бодяк, татарник // Определитель растений Республики Тывы. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2007. – С. 507–509.
4. Красюк Е.В. Характеристика фенольных соединений видов монарды, интродуцированных в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина, И.Е. Анищенко // Башкирский химический журнал. – 2015. – Т. 22. – №3. – С. 79–83.
5. Современные подходы к вопросу стандартизации лекарственного растительного сырья / А.Н. Миронов, И.В. Сакаева, Е.И. Саканян и др. // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2013, №2. – С. 52–55.

## THE DEVELOPMENT OF A METHOD OF STANDARDIZATION OF HERBAE *CIRSIIUM ARVENSE* (L.) FOR THE CONTENT OF FLAVONOIDS

**K.A. Pupykina, S.R. Shamsutdinova, L.V. Startseva**

*Bashkir State Medical University, Ufa, Russia*

*The article presents the results of the development of the method of standardization of the herbae *Cirsium arvense* (L.) to the content of flavonoids. Studied the conditions for the quantitative determination of flavonoids studied plants and an optimal extraction parameters such as concentration of the extractant, the ratio of raw materials and extractive solvent, the degree of atomization, time and frequency extraction, concentration and the amount of added complexing additives. It is established that the best extractant for herbae *Cirsium arvense* (L.) is ethyl alcohol at a concentration of 40%, the ratio of raw materials and extractant is 1:30, the degree of grinding is 2 mm, the optimal extraction time is 30 minutes with three-time extraction. It is established that the dominant substance is apigenin, which is proposed to be recalculated and the analytical wavelength for the quantitative determination of flavonoids is  $388\pm 2$  nm.*

- Keywords: *Cirsium arvense* (L.), herb, flavonoids, apigenin, quantitative determination