

УДК 615.322:58

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КАЧЕСТВЕННОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ ВЯЗЕЛЯ РАЗНОЦВЕТНОГО (*CORONILLA VARIA L.*)

© Т.В. Сень^{1*}, В.Н. Бубенчикова², К.Р. Бубенчикова²

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет, ул. Вокзальная, 19, Белгород, 308000, Россия

² Курский государственный медицинский университет, ул. К. Маркса, 3, Курск, 305041, Россия, bubenhikova.ksmu@yandex.ru

Вязель разноцветный семейства Бобовые относится к многолетним травянистым растениям, широко представленным в областях Центрального Черноземья, на Кавказе и в Сибири. Различные части растения применяются в народной медицине для лечения диатеза, диарей, опущения желудка, а также в качестве сердечного и диуретического средства. Химический состав травы вязеля разноцветного изучен недостаточно. К малоизученным классам биологически активных веществ вязеля разноцветного травы относятся флавоноидные соединения.

Цель работы – разработка методик качественной идентификации и количественного определения флавоноидов в вязеле разноцветного траве.

Объектом исследования выбрана трава вязеля разноцветного, которую заготавливали в 2020–2022 годах в Белгородской области, срезая надземную часть на уровне 30 см. Определены оптимальные условия для качественной идентификации флавоноидов: экстракция сырья – 10 мин; экстрагент – спирт этиловый 96%, используемые пластинки: «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ 10×20», система растворителей: бутанол–уксусная кислота–вода (4 : 1 : 2), объем наносимого извлечения 10 мкл, время насыщения камеры – 30 мин, детектирующий агент – 5% алюминия хлорида раствор.

Количественный анализ флавоноидов осуществляли с использованием метода дифференциальной спектрофотометрии. Методику количественного определения разрабатывали по следующим направлениям: исследование параметров экстракции на выход флавоноидов из данного сырья, установление максимумов поглощения извлечения из сырья с алюминия хлоридом, изучение условий спектрофотометрирования полученного комплекса, выбор стандартного вещества. Степень измельченности сырья – 1 мм, экстрагент – этиловый спирт 70%, время экстрагирования – 60 мин, соотношение сырье–экстрагент (1 : 100), стандартное вещество гиперозид.

Ключевые слова: вязель разноцветный, трава, качественная идентификация флавоноидов, спектрофотометрическое определение суммы флавоноидов.

Для цитирования: Сень Т.В., Бубенчикова В.Н., Бубенчикова К.Р. Разработка методик качественной идентификации и количественного определения суммы флавоноидов в траве вязеля разноцветного (*Coronilla varia L.*) // Химия растительного сырья. 2024. №2. С. 237–244. DOI: 10.14258/jcprm.20240212647.

Введение

Растения рода Вязель (*Coronilla L.*), относятся к семейству Бобовые, которые представлены однолетними и многолетними травянистыми растениями, а также кустарниками и полукустарниками [1]. Род Вязель включает 55 видов, произрастающих в умеренно теплых и субтропических районах Европы, Африки, Азии, наибольшая вариабельность видов представлена в странах Средиземноморья и тропической Африке. Во флоре России произрастает один вид – вязель разноцветный [2]. Он распространен в Европейской части России, на Кавказе, в Крыму, Западной Сибири [1, 3]. Места обитаний представителей данного рода самые разнообразные: скалистые склоны, горные леса, лесные поляны, лесные опушки, заросли кустарников, овраги, сухие луга, предпочтительно это горные местности [1, 3].

Представители рода вязель в основном используются в качестве кардиотонических средств, с этой целью применяются семена растений. Так, в эксперименте настойка из семян вязеля завитого оказывает кардиотоническое действие [4]. Листья вязеля увенчаного и вязеля завитого обладают слабительным действием [4].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Фармакологические свойства растений рода вязель могут быть обусловлены различными классами биологически активных веществ, такими как карденолиды (найжены в семенах вязаля Баланзы, в. увенчаного, в. восточного, в. завитого), кумаринами (найжены в семенах этих же видов, а также в корнях, листьях, плодах вязаля завитого) [5].

Среди растений рода вязель перспективным объектом в областях Центрального Черноземья является вязель разноцветный [6], широко распространенный в данном регионе, а также на Кавказе, Сибири. Вязель разноцветный издавна применяется в народной медицине для лечения диатеза, диарей, опущения желудка, а также в качестве сердечного средства [4]. Выделенный из семян вязаля разноцветного гликозид коронозид по биологической активности близок к строфантину. Его также используют для лечения кровавого поноса. По данным литературы, настоек травы вязаля разноцветного проявляет диуретическую активность [7].

Однако химический состав вязаля разноцветного изучен незначительно. В семенах вязаля найжены карденолиды (коронозид и корониллин), углевод стахиоза, жирное масло, мочевая кислота, жирные кислоты. Трава содержит кардиотонический гликозид (корониллин), псевдокумарин, дубильные вещества, аскорбиновую кислоту ($\approx 27.5\%$), каротиноиды (2.6–10.6 мг%) [7, 8]. До настоящего времени вязель разноцветный на территории России в качестве лекарственного растительного сырья не зарегистрирован. Это объясняется недостаточной изученностью состава его биологически активных веществ, отсутствием нормативной документации. Детальное исследование химического состава различных органов вязаля разноцветного может послужить основанием для его дальнейшего использования в научной медицине.

К малоизученным классам биологически активных веществ травы вязаля разноцветного можно отнести флавоноидные соединения. Флавоноиды – это класс природных соединений, характеризующийся низкой токсичностью, многообразием структурных особенностей и широким спектром фармакологической активности, включая антиоксидантное, желчегонное, гепатопротекторное, противовоспалительное, диуретическое, гипогликемическое и многие другие виды фармакологической активности [9–12].

Цель настоящей работы – разработка методик качественной идентификации и количественного определения флавоноидов в вязаля разноцветного траве.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования выступила трава вязаля разноцветного, которую заготавливали в 2020–2022 годах в Белгородской области. Заготовку сырья проводили в начале цветения, в солнечную погоду, при этом срезали верхушки надземной части на уровне 30 см. Заготовленное сырье доставляли к месту сушки, раскладывали тонким слоем и сушили, исключая попадания прямых солнечных лучей. Из высушенного сырья отбирали пробы для анализов, формируя из них среднюю пробу и пробы для проведения анализов [13]. Качественную идентификацию флавоноидов проводили методом тонкослойной хроматографии. При разработке методики идентификации изучали следующие параметры: условия экстрагирования, выбор стандартных веществ, выбор хроматографических пластинок, установление оптимальной системы растворителей, определение объема аликвоты извлечения для оптимального разделения, установление детектирующего реактива [14]. Для количественного анализа использовали метод дифференциальной спектрофотометрии [13]. Разработка методики количественного определения проводилась по следующим направлениям: исследование параметров экстракции на выход флавоноидов из данного сырья, установление максимумов поглощения извлечения из сырья с алюминия хлоридом для проведения спектрофотометрирования, изучение условий спектрофотометрирования полученного комплекса, выбор стандартного вещества. Полученные спектры регистрировали на спектрофотометре СФ 2000.

Обсуждение результатов

Способы экстрагирования для проведения качественной идентификации устанавливали после проведения анализа методов, приведенных для этих целей в ГФ XIV изд. [13]. В результате, для извлечения комплекса флавоноидов из сырья, за основу были взяты 4 методики, отличающиеся между собой концентрацией спирта этилового, используемого для экстрагирования и временем экстракции. В первом случае применяли метод, используемый и для количественного определения флавоноидов: к 1.0 г измельченного сырья приливали спирт этиловый 70% в объеме 100 мл, экстрагировали на водяной бане с обратным холодильником в течение 60 мин. Следующие методики отличались только концентрацией спирта этилового. Во втором

случае к 1.0 г измельченного сырья приливали спирт этиловый 96% в объеме 10 мл, экстрагировали на водяной бане с обратным холодильником 10 мин; в третьем и четвертом – экстрагирование проводили таким же методом, только в третьем случае экстрагентом выступал спирт этиловый 70%, а в четвертом – спирт этиловый 50%. После проведения экстракции извлечение охлаждали и подвергали фильтрованию [13, 14].

Для установления стандартных веществ использовали данные ранее проведенного нами хроматографического исследования и данных литературы, в результате чего в качестве стандартных веществ нами использованы фармакопейные стандартные образцы: рутина (Sigma-Aldrich), гиперозида (USP reference standard). На хроматограмме обнаружено три основных зоны, две из которых соответствовали рутину и гиперозиду.

Разделение флавоноидов вязаля разноцветного проводили с использованием пластинок «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ 10×20», на которых нанесен слой силикагеля и имеющих различные основы: алюминиевую и полимерную (полиэтилен-терефталат) и их различные серии. Для дальнейшего исследования были предложены хроматографические пластинки «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ 10×20» со слоем силикагеля и алюминиевой подложкой. При выборе хроматографических систем для проведения анализа были применены следующие системы растворителей: хлороформ – спирт этиловый 96% (2 : 1), бутанол-1 – уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2), этилацетат – бутанол-1 – муравьиная кислота – вода (30 : 10 : 5 : 5), этилацетат – метанол – вода (77 : 12 : 11), этилацетат – муравьиная кислота – вода (65 : 15 : 20), муравьиная кислота – уксусная кислота – вода – этилацетат (11 : 11 : 27 : 100), муравьиная кислота – вода – этилацетат (2,5 : 4 : 50). Проведенные исследования показали, что наилучшее разделение содержащихся в исследуемом сырье флавоноидов происходит при использовании системы растворителей: бутанол-1 – уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2).

При выборе объема извлечения, наносимого на хроматографическую пластинку для оптимального разделения содержащихся соединений, использовали различные объемы: 10, 20, 30, 50 мкл. В ходе исследования установлено, что оптимальным объемом является объем 10 мкл, при его использовании получают воспроизводимые и репрезентативные хроматограммы. Стандартные растворы наносили также в объеме 10 мкл. Нанесение проб извлечений и стандартных веществ осуществляли с помощью микрошприца. Сушку пластин после проведения хроматографии производили на воздухе, затем хроматограммы обрабатывали раствором алюминия хлорида 5% из пульверизатора. Хроматограмму высушивали на воздухе и просматривали в УФ-свете, используя длину волны 365 нм. Исследуемая хроматограмма должна содержать три зоны желтого цвета, две из них – на уровне рутина и гиперозида.

Разработанную методику идентификации флавоноидов подвергали валидации по параметрам: робастность, специфичность, воспроизводимость. При исследовании робастности изучали влияние насыщенности камеры для хроматографии на воспроизводимость ТСХ-профиля и эффективность разделения флавоноидных соединений вязаля разноцветного. Для этого хроматографические пластинки с насыщенными пробами из различных серий помещали в камеру содержащую систему растворителей: бутанол-1 – уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2), с насыщением в течение различного времени: 30, 60 мин и в ненасыщенную камеру. Проведенные результаты показали, что в камере с насыщением происходит более четкое разделение по сравнению с ненасыщенной камерой, а уже время насыщения на разделение флавоноидов не влияет, в связи с этим в дальнейшем использовали время насыщения 30 мин.

При исследовании специфичности методики установлено, что разработанные условия позволяют установить присутствие стандартных образцов флавоноидов: рутина и гиперозида, а расположение их зон дает возможность описывать зоны адсорбции флавоноидных соединений вязаля относительно веществ-стандартов.

При изучении воспроизводимости методики проводили сравнение хроматограмм, полученных с использованием двух типов хроматографических пластин: с полимерной и алюминиевой подложкой, а также хроматограмм, полученных разными аналитиками и в разные дни. Полученные хроматографические профили с расположением зон, их объема, интенсивности окраски были идентичными.

Результаты проведенного анализа позволили предложить следующие условия для качественной идентификации флавоноидов: экстракция сырья – 10 мин, экстрагент – спирт этиловый 96%, используемые пластинки: «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ 10×20», система растворителей: бутанол-1 – уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2), объем наносимого извлечения – 10 мкл, объем стандартных образцов (2,5 мг в 10 мл спирта этилового) – 10 мкл, время насыщения камеры – 30 мин, детектирующий реагент – 5% раствор хлорида алюминия.

Разработка методики количественного определения флавоноидов в вязеле разноцветного траве предусматривала изучение условий количественной экстракции флавоноидов, при этом исследованы: степень измельченности сырья, выбор соответствующего экстрагента, выбор времени экстракции, соотношение сырье–экстрагент [15–17]. Влияние степени измельченности сырья вязеля на выход флавоноидов представлено в таблице 1.

Экстрагирование флавоноидов, по данным литературы, осуществляется с применением спирта различной концентрации [18]. Нами в качестве экстрагента были применены спирт этиловый различной концентрации и вода. Результаты исследования показали, что оптимальным экстрагентом для извлечения флавоноидов из травы вязеля разноцветного является спирт этиловый 70% (табл. 2).

Установление продолжительности экстракции показало, что при экстрагировании на кипящей водяной бане динамическое равновесие устанавливается через 60 мин (табл. 3). Увеличение времени экстракции не приводит к увеличению содержания флавоноидов (табл. 3).

Оптимальное соотношение сырье–экстрагент установлено в диапазоне 1 : 100 (табл. 4).

В результате выявлены оптимальные условия экстрагирования флавоноидов: измельченность сырья – 1 мм, экстрагент – спирт этиловый 70%, экстрагирование на кипящей водяной бане – 60 мин, соотношение сырье – спирт этиловый 70% – 1 : 100.

При разработке методики количественного определения флавоноидов необходимо установление максимума поглощения, необходимого для проведения спектрофотометрирования и установления стандартного вещества для расчетов. Исследование водно-спиртового извлечения (70% спирт этиловый) из травы вязеля разноцветного с алюминия хлоридом показало, что его максимум поглощения находится при длине волны 398 нм, и кривые поглощения исследуемого извлечения коррелируют с кривыми поглощения стандартного раствора гиперозида, максимум поглощения гиперозида с алюминия хлоридом находится при длине волны 400 нм (рис.), что показывает возможность использовать длину волны 400 нм в качестве аналитической длины, а в качестве стандартного образца (СО) – гиперозид.

Таблица 1. Содержание флавоноидов в вязеле разноцветного траве в зависимости от степени измельченности сырья

Размер частиц, мм	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, %
1	2.62±0.08
2	1.60±0.06
3	0.95±0.03

Таблица 2. Содержание флавоноидов в траве вязеля разноцветного в зависимости от используемого экстрагента

Экстрагент	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, %
Вода	1.94±0.08
Спирт этиловый, 96%	2.47±0.09
Спирт этиловый, 70%	2.62±0.08
Спирт этиловый, 50%	2.04±0.07
Спирт этиловый, 30%	1.66±0.07

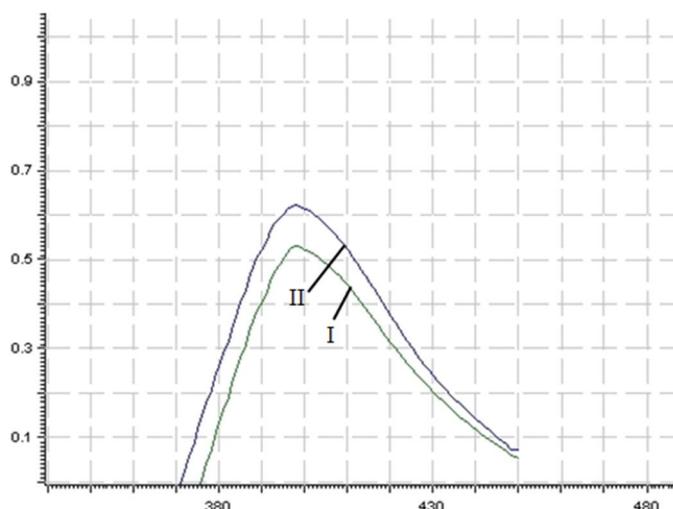
Таблица 3. Содержание флавоноидов в траве вязеля разноцветного в зависимости от времени экстрагирования флавоноидов

Продолжительность извлечения флавоноидов, мин	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, %
30	2.08±0.09
45	2.28±0.10
60	2.62±0.08
90	2.50±0.09

Таблица 4. Зависимость содержания флавоноидов в вязеля разноцветного траве от объема экстрагента

Соотношение сырье – спирт этиловый 70%	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, %
1 : 20	1.90±0.09
1 : 40	2.00±0.07
1 : 50	2.40±0.10
1 : 100	2.62±0.08

УФ-спектр водно-спиртового извлечения из вязаля разноцветного травы с алюминия хлоридом (I) и гиперозида с алюминия хлоридом (II)



Основу методики количественного определения флавоноидов составляет реакция комплексообразования с алюминия хлоридом, в связи с чем, было проведено изучение концентрации алюминия хлорида и его объема на полноту образования комплексов алюминия хлорида с флавоноидами (табл. 5).

Результаты проведенного фрагмента экспериментального исследования позволили установить процентное содержание алюминия хлорида, необходимое для проведения реакции комплексообразования (3%) и его объем (2 мл).

Устойчивость в окрашивании водно-спиртового извлечения из вязаля разноцветного сырья с алюминия хлоридом устанавливается через 30 мин и далее сохраняется 120 мин, что является достаточным временем для проведения анализа флавоноидов (табл. 6).

Установлены валидационные характеристики для предложенной методики определения флавоноидов: линейность, специфичность, повторяемость, воспроизводимость, правильность [19, 20]. Линейность методики была проведена для серии растворов гиперозида с алюминия хлоридом. Коэффициент корреляции составил 0.99923. Определение специфичности осуществляли соответствием максимумов поглощения суммы флавоноидов травы вязаля разноцветного с алюминия хлоридом и гиперозида с алюминия хлоридом (рис.).

Таблица 5. Содержание флавоноидов в траве вязаля разноцветного в зависимости от концентрации и объема алюминия хлорида

Реакция комплексообразования	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид, %
Процентное содержание алюминия хлорида, %	
1	2.60±0.11
2	2.60±0.09
3	2.70±0.10
4	2.60±0.10
5	2.62±0.08
Объем 3% раствора алюминия хлорида, мл	
1	2.58±0.09
2	2.70±0.13
3	2.62±0.12

Таблица 6. Устойчивость водно-спиртового извлечения травы вязаля разноцветного с алюминия хлорида раствором 3%

Продолжительность, мин	Оптическая плотность (λ – 400 нм)
15	0.296
30	0.315
45	0.313
60	0.315
90	0.315
120	0.314

Повторяемость методики исследовали в шести повторностях, первоначально с одним образцом сырья. Приемлемость методики устанавливается величиной относительности стандартного отклонения, который не должен превышать 10%. В наших исследованиях он составил $2.69 \pm 0.10\%$.

Для определения воспроизводимости разработанной методики проводили два исследователя, каждый по три образца, которые изучали в трех повторностях. Критерием приемлемости выступала величина стандартного отклонения, которая не должна превышать 15%. В нашем случае она составила $2.71 \pm 0.13\%$.

При определении правильности методики использовали метод добавок, при этом к исследуемому извлечению прибавляли раствор гиперозида с известной концентрацией. Средний процент восстановления находился в диапазоне от 99.07% до 100.93%, средняя величина которого составила 100.12%. Таким образом, разработанная методика спектрофотометрического определения флавоноидов в вязеля разноцветного траве соответствует характеристикам валидации и ее можно использовать для оценки качества сырья «Вязеля разноцветного травы».

Выводы

1. Разработана качественная идентификация флавоноидов методом тонкослойной хроматографии в вязеля разноцветного траве.
2. Разработана методика определения суммы флавоноидов в вязеля разноцветного траве с использованием стандартного образца гиперозида при длине волны 400 нм методом дифференциальной спектрофотометрии.
3. Содержание суммы флавоноидов в вязеля разноцветного траве колебалось от 2.14 ± 0.10 до $3.55 \pm 0.15\%$.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Белгородского государственного национального исследовательского университета и Курского 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. М., 1955. Т. 13. С. 247–255.
2. Киселева К.В., Майоров С.Р., Новиков В.С. Флора средней полосы России: Атлас-определитель. М., 2019. 544 с.
3. Губанов И.А., Киселева К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н. Иллюстрированный определитель растений Средней России. М., 2004. С. 439–447.
4. Дикорастущие полезные растения России / под ред. А.Л. Буданцева, С.П. Лесиовской. СПб., 2001. 663 с.
5. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3. Семейство Fabaceae–Ariaceae / отв. ред. А.Л. Буданцев. СПб.; М., 2010. 601 с.
6. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России: 11-е изд. М., 2014. С. 157–159.
7. Лавренева Г.В., Лавренев В.К. Энциклопедия лекарственных растений. Донецк, 1987. Т. 1. 279 с.
8. Завражнов В.И., Китаева Р.И., Хмелев К.Ф. Лекарственные растения Центрального Черноземья. Воронеж, 1975. 424 с.
9. Куркин В.А. Основы фитотерапии: учебное пособие. Самара, 2009. 963 с.
10. Куркин В.А., Куркина А.В., Авдеева Е.В. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений // Фундаментальные исследования. 2013. №11-9. С. 1897–1901.
11. Куркина А.В. Подходы и стандартизация сырья, содержащего флавоноиды // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013. №5. С. 38.
12. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. Самара, 2012. 290 с.
13. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М., 2018. Т. 4. 1833 с.

14. Бубенчиков Р.А., Кораблёва Т.В. Разработка методик идентификации и количественного определения флавоноидов в траве латука компасного (*Lactuca serriola* L.) // Человек и его здоровье. 2019. №2. С. 87–94. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2.
15. Зименкина Н.И., Куркин В.А. Разработка подходов к стандартизации листьев ореха грецкого // Фармация. 2020. Т. 69, №7. С. 23–28. DOI: 10/29296/25419218-2020-07-04.
16. Айрапетян Э.Э., Леонова В.Н., Коновалов Д.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в полыни метельчатой траве // Человек и его здоровье. 2022. Т. 25, №2. С. 105–112. DOI: 10.21626/vestnic/2022-2/11.
17. Куркин В.А., Хусаинова А.И., Куркин А.В., Бакова Н.Н., Бакова Е.Ю. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного // Химия растительного сырья. 2021. №1. С. 159–166. DOI: 10.14258/jcprgm.2021017423.
18. Васькова А.И., Куркин В.А. Разработка подходов к стандартизации травы тысячелистника обыкновенного // Фармация. 2022. Т. 71, №4. С. 12–18. DOI: 10/29296/25419218-2022-04-02.
19. Руководство ИСН «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» Q2(R1) // Фармация. 2008. №4. С. 3–10.
20. Иванцова Л.В., Белоногова В.Д., Гилева А.А. Определение флавоноидов в листьях персика обыкновенного: валидация методики // Фармация. 2018. Т. 67, №7. С. 27–31. DOI: 10.29296/25419218-2018-07-05.

Поступила в редакцию 10 марта 2023 г.

После переработки 14 марта 2023 г.

Принята к публикации 30 ноября 2023 г.

Sen T.V.^{1*}, Bubenchikova V.N.², Bubenchikova K.R.² DEVELOPMENT OF METHODS FOR QUALITATIVE IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE AMOUNT OF FLAVONOIDS IN THE HERB *CORONILLA VARIA* L. (*CORONILLA VARIA* L.)

¹ Belgorod State National Research University, Vokzalnaya st., 19, Belgorod, 308000, Russia

² Kursk State Medical University, K. Marksa st., 3, Kursk, 305041, Russia, bubenchikova.ksmu@yandex.ru

Coronilla varia is a perennial herbaceous plant, widely represented in the regions of the Central Black Earth Region, the Caucasus and Siberia. Various parts of the plant are used in folk medicine to treat diathesis, diarrhea, prolapse of the stomach, and as a cardiac and diuretic. The chemical composition of the herb *elm* variegated is not sufficiently studied. The poorly studied classes of biologically active substances of *elm* grass include flavonoid compounds.

The aim of the work is to develop methods of qualitative identification and quantitative determination of flavonoids in the herb *Coronilla varia*.

The object of the study was selected *Coronilla varia* herb, which was harvested in 2020-2022 in the Belgorod region, cutting the above-ground part at the level of 30 cm. Optimal conditions for qualitative identification of flavonoids were determined: extraction of raw materials – 10 minutes: extractant - ethyl alcohol 96%, plates used: "Sorbfil PTSH-AF-A-UF 10x20", solvent system: butanol-acetic acid-water (4 : 1 : 2), volume of applied extraction 10 µl, chamber saturation time – 30 minutes, detecting agent – 5% aluminum chloride solution.

Quantitative analysis of flavonoids was carried out using differential spectrophotometry. The method of quantitative determination was developed in the following directions: study of extraction parameters on flavonoids yield from the given raw material, determination of absorption maxima of extraction from raw material with aluminum chloride, study of spectrophotometric conditions of obtained complex, choice of standard substance. Crushing degree of raw materials 1 mm, extractant – ethyl alcohol 70%, extraction time 60 minutes, ratio raw material-extractant (1 : 100), the standard substance hyperoside.

Keywords: *Coronilla varia*, herb, qualitative identification of flavonoids, spectrophotometric determination of the sum of flavonoids.

For citing: Sen T.V., Bubenchikova V.N., Bubenchikova K.R. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 2, pp. 237–244. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprgm.20240212647.

* Corresponding author.

References

1. *Flora SSSR*. [Flora of the USSR]. Moscow, 1955, vol. 13, pp. 247–255. (in Russ.).
2. Kiseleva K.V., Mayorov S.R., Novikov V.S. *Flora sredney polosy Rossii: Atlas-opredelitel'*. [Flora of central Russia: Key Atlas]. Moscow, 2019, 544 p. (in Russ.).
3. Gubanov I.A., Kiseleva K.V., Novikov V.S., Tikhomirov V.N. *Illyustrirovannyi opredelitel' rasteniy Sredney Rossii*. [Illustrated guide to plants of Central Russia]. Moscow, 2004, pp. 439–447. (in Russ.).
4. *Dikorastushchiye poleznye rasteniya Rossii* [Wild useful plants of Russia], ed. A.L. Budantsev, S.P. Lesiovskaya. St. Petersburg, 2001, 663 p. (in Russ.).
5. *Rastitel'nyye resursy Rossii: Dikorastushchiye tsvetkovyye rasteniya, ikh komponentnyy sostav i biologicheskaya aktivnost'*. T. 3. *Semeystvo Fabaceae-Apiaceae* [Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity. Vol. 3. Family Fabaceae-Apiaceae], ed. A.L. Budantsev. St. Petersburg; Moscow, 2010, 601 p. (in Russ.).
6. Mayevskiy P.F. *Flora sredney polosy yevropeyskoy chasti Rossii: 11-ye izd.* [Flora of the central zone of the European part of Russia: 11th ed.]. Moscow, 2014, pp. 157–159. (in Russ.).
7. Lavreneva G.V., Lavrenev V.K. *Entsiklopediya lekarstvennykh rasteniy*. [Encyclopedia of medicinal plants]. Donetsk, 1987, vol. 1, 279 p. (in Russ.).
8. Zavrazhnov V.I., Kitayeva R.I., Khmelev K.F. *Lekarstvennyye rasteniya Tsentral'nogo Chernozem'ya*. [Medicinal plants of the Central Black Earth Region] Voronezh, 1975, 424 p. (in Russ.).
9. Kurkin V.A. *Osnovy fitoterapii: uchebnoye posobiye*. [Fundamentals of herbal medicine: textbook]. Samara, 2009, 963 p. (in Russ.).
10. Kurkin V.A., Kurkina A.V., Avdeyeva Ye.V. *Fundamental'nyye issledovaniya*, 2013, no. 11-9, pp. 1897–1901. (in Russ.).
11. Kurkina A.V. *Voprosy biologicheskoy, medi-tsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2013, no. 5, p. 38. (in Russ.).
12. Kurkina A.V. *Flavonoidy farmakopeynykh rasteniy: monografiya*. [Flavonoids of pharmacopoeial plants: monograph]. Samara, 2012, 290 p. (in Russ.).
13. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdaniye*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition]. Moscow, 2018, vol. 4, 1833 p. (in Russ.).
14. Bubenchikov R.A., Korablova T.V. *Chelovek i yego zdorov'ye*, 2019, no. 2, pp. 87–94. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2. (in Russ.).
15. Zimenkina N.I., Kurkin V.A. *Farmatsiya*, 2020, vol. 69, no. 7, pp. 23–28. DOI: 10/29296/25419218-2020-07-04. (in Russ.).
16. Ayrapetyan E.E., Leonova V.N., Kononov D.A. *Chelovek i yego zdorov'ye*, 2022, vol. 25, no. 2, pp. 105–112. DOI: 10.21626/vestnik/2022-2/11. (in Russ.).
17. Kurkin V.A., Khusainova A.I., Kurkin A.V., Bakova N.N., Bakova Ye.Yu. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2021, no. 1, pp. 159–166. DOI: 10.14258/jcprm.2021017423. (in Russ.).
18. Vas'kova A.I., Kurkin V.A. *Farmatsiya*, 2022, vol. 71, no. 4, pp. 12–18. DOI: 10/29296/25419218-2022-04-02. (in Russ.).
19. *Farmatsiya*, 2008, no. 4, pp. 3–10. (in Russ.).
20. Ivantsova L.V., Belonogova V.D., Gileva A.A. *Farmatsiya*, 2018, vol. 67, no. 7, pp. 27–31. DOI: 10.29296/25419218-2018-07-05. (in Russ.).

Received March 10, 2023

Revised March 14, 2023

Accepted November 30, 2023

Сведения об авторах

Сень Татьяна Владимировна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии, Sen_T@bsu.edu.ru

Бубенчикова Валентина Николаевна – доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой фармакогнозии и ботаники, bubenhikova.ksmu@yandex.ru

Бубенчикова Ксения Романовна – студент, bubenhikova.ksmu@yandex.ru

Information about authors

Sen Tatyana Vladimirovna – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Technology, Sen_T@bsu.edu.ru

Bubenchikova Valentina Nikolaevna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Head of the Department of Pharmacognosy and Botany, bubenhikova.ksmu@yandex.ru

Bubenchikova Ksenia Romanovna – student, bubenhikova.ksmu@yandex.ru