

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ПОЛЫНИ МЕТЕЛЬЧАТОЙ ТРАВЕ

© Айрапетян Э.Э., Леонова В.Н., Коновалов Д.А.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета (ПМФИ – филиал ВолгГМУ)

Россия, 357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, д. 11

Растения рода *Artemisia* имеют богатый комплекс биологически активных соединений, среди которых преобладают эфирные масла, сесквитерпеновые лактоны, флавоноиды, ацетиленовые соединения. Особое внимание привлекает *Artemisia scoraria* Waldst. et Kit. Благодаря широкому спектру терапевтической активности полынь метельчатая используется в качестве желчегонного, гепатопротекторного, антимикробного, противовоспалительного средства.

Флавоноиды являются одной из ведущих групп биологически активных соединений (БАВ) в водных и водно-спиртовых извлечениях из надземной части полыни метельчатой. Эти соединения обладают мощным гепатопротекторным, желчегонным, противовоспалительным, противовирусным эффектами.

Цель исследования: разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве полыни метельчатой.

Материалы и методы. Объектом исследования явилась полынь метельчатой трава, собранная в фазу цветения в Никитском ботаническом саду в 2016-2020 годах. Количественное определение суммы флавоноидов в сырье проводили методом УФ-спектроскопии.

Результаты. Установлено, что дифференциальный спектр комплексного соединения исследуемого извлечения с алюминия хлоридом по положению максимума светопоглощения (410 нм) не отличается от дифференциального спектра комплекса рутина с ионами алюминия. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в образцах полыни метельчатой травы, заготовленных в фазу цветения в 2016-2020 гг. в Никитском ботаническом саду, составляет в среднем $1,95 \pm 0,05\%$ в пересчете на абсолютно сухое сырье.

Заключение. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в сырье полыни метельчатой методом УФ-спектрофотометрии в пересчете на рутин. Данная методика позволяет оценивать качество Полыни метельчатой травы по содержанию одной из основных групп действующих веществ – флавоноидов.

Ключевые слова: полынь метельчатая; флавоноиды; рутин; УФ-спектрофотометрия.

Айрапетян Эмма Эдуардовна – аспирант кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, ПМФИ – филиал ВолгГМУ, г. Пятигорск. ORCID iD: 0000-0002-4435-7074. E-mail: airapetyan0505@mail.ru (автор, ответственный за переписку)

Леонова Виктория Нодарьевна – канд. фарм. наук, доцент кафедры токсикологической и аналитической химии, ПМФИ – филиал ВолгГМУ, г. Пятигорск. ORCID iD: 0000-0002-0862-6628. E-mail: sheryfka@mail.ru

Коновалов Дмитрий Алексеевич – д-р фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, ПМФИ – филиал ВолгГМУ, г. Пятигорск. ORCID iD: 0000-0002-0960-6127. E-mail: d.a.konovalev@pmedpharm.ru

Растения рода *Artemisia* имеют богатый комплекс биологически активных соединений, среди которых преобладают эфирные масла, сесквитерпеновые лактоны, флавоноиды, ацетиленовые соединения [1-4]. Также в разных видах полыней обнаружены кумарины, фенолкарбоновые кислоты, жирные кислоты, фитостеролы, сапонины, дубильные вещества, аминокислоты [5]. В растениях содержится разнообразный состав макро- и микроэлементов. Надземная часть (трава) некоторых видов этого рода используется как в народной, так и в официальной медицине [6].

Особое внимание привлекает *Artemisia scoraria* Waldst. et Kit. Растение является перспективным источником биологически активных веществ. Благодаря широкому спектру терапевтической активности полынь метельчатая используется в качестве желчегонного, гепатопротекторного, антимикробного, противовоспа-

лительного средства [7-9]. Флавоноиды являются одной из основных групп действующих веществ надземной части полыни метельчатой [10]. Эти соединения обладают мощным гепатопротекторным, желчегонным, противовоспалительным, противовирусным действием [11-14]. Рутин является одним из основных флавоноидов, обнаруженных в *Artemisia scorariae herba* [10, 15-16]. Этот флавоноид, выделенный из полыни метельчатой, был исследован на модели токсического повреждения печени. Предварительное введение крысам рутин (20 мг/кг) предотвращало вызванное парацетамолом повышение сывороточного уровня аспартаттрансаминазы и аланинтрансаминазы, а также предотвращало вызванное CCl_4 удлинение времени пентобарбиталового сна, подтверждая гепатопротекторные свойства этого вещества [17].

Цель работы: разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в полыни метельчатой траве.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования явилась полыни метельчатой трава, собранная в фазу цветения в Никитском ботаническом саду в 2016-2020 годах (образцы 1-6). Для количественного определения суммы флавоноидов Полыни метельчатой травы за основу была взята методика количественного определения суммы флавоноидов Полыни горькой травы методом дифференциальной спектроскопии [18]. В качестве стандартного образца использовали рутин ($\geq 97\%$; «Сигмабиосинтез»). Измерение оптических плотностей проводили на спектрофотометре СФ 2000.

Предварительно было проведено исследование влияния условий экстракции на полноту извлечения флавоноидов.

«Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих через сито с отверстиями размером 1 мм. 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 60 мл спирта 70%. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 минут, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. После охлаждения фильтр промывают 40 мл спирта 70%, объем извлечения доводят до метки и перемешивают (раствор А испытуемого раствора)».

2 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 4 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%, 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30%, доводят объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора). Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 30 мин на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора А испытуемого раствора и 1 капли уксусной кислоты разведенной 30%, доведенный спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

«Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина в таких же условиях. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А СО рутина, 1 каплю уксусной кислоты разведенной

30%, доведенный спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.»

Приготовление раствора СО рутина

«0,05 г (точная навеска) рутина, предварительно высушенного при 130-135°C в течение 3 ч, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяют при нагревании на водяной бане в 85 мл спирта 96%, охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А СО рутина).

1,0 мл раствора А СО рутина, 4 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2% и 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30% помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят спиртом 96% до метки (раствор Б СО рутина)».

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

$$X = \frac{A_x \cdot W_{x1} \cdot W_{ax2} \cdot a_{ст} \cdot V_{аст} \cdot 100 \cdot 100}{A_{ст} \cdot a_x \cdot V_{ax} \cdot W_{ст1} \cdot W_{ст2} \cdot (100 - B)},$$

A_x – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

$A_{ст}$ – оптическая плотность раствора Б СО рутина;

$a_{ст}$, a_x – навески стандартного вещества и растительного сырья, соответственно, г;

W_{x1} , W_{ax2} , $W_{ст1}$, $W_{ст2}$ – объемы мерных колб, использованных для получения анализируемого раствора и раствора СО рутина, мл;

$V_{аст}$, V_{ax} – объемы аликвоты анализируемого вещества и раствора СО, мл;

B – потеря в массе при высушивании сырья, %.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Предварительно измеренные спектры поглощения некоторых спиртовых извлечений показали присутствие основного максимума в области 330 нм (рис. 1).

По результатам опытов очевидно, что наибольшая интенсивность светопоглощения в измеряемой области УФ-спектра достигается при использовании в качестве экстрагента спирта этилового 70%.

На основании экспериментальных данных установлено, что дифференциальный спектр комплексного соединения исследуемого извлечения с алюминия хлоридом по положению максимумов светопоглощения (410 нм) не отличаются от дифференциального спектра комплекса рутина с ионами алюминия (рис. 2, 3).

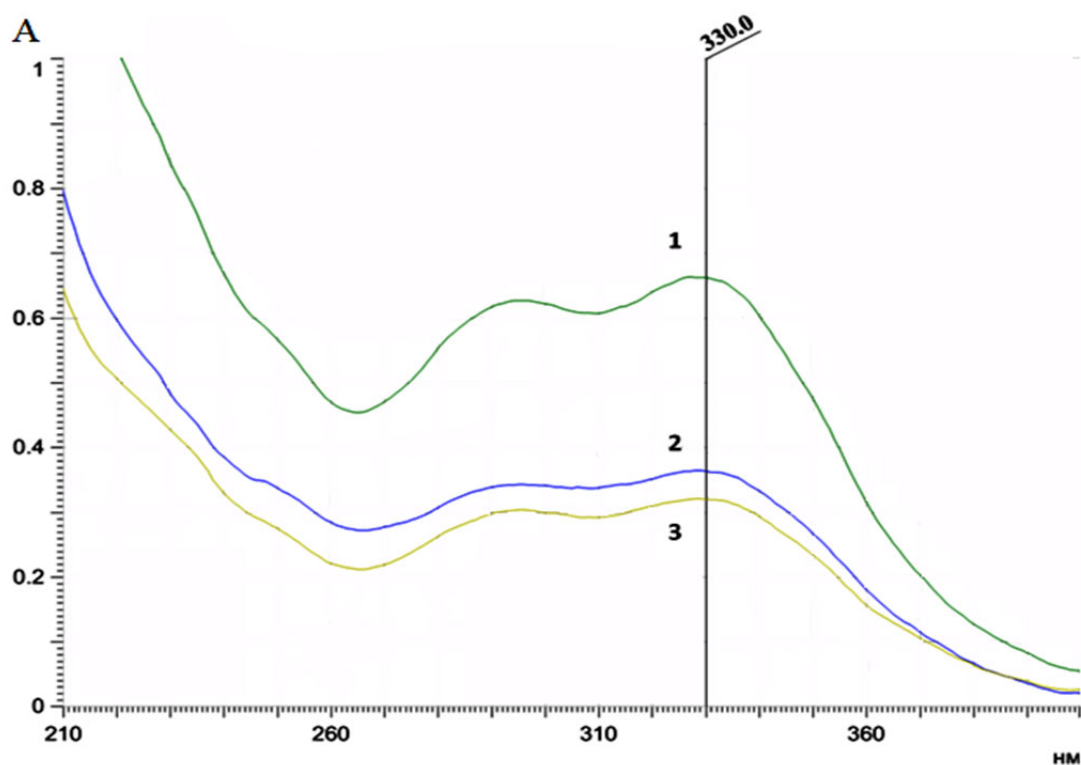


Рис. 1. УФ-спектры извлечений из полыни метельчатой травы, полученных с помощью: 1 – спирта этилового 70%; 2 – спирта этилового 40%; 3 – спирта этилового 96%.

Fug. 1. UV spectra of extracts from *Artemisia scoparia* herb obtained by using: 1 – ethyl alcohol 70%; 2 – ethyl alcohol 40%; 3 – ethyl alcohol 96%.

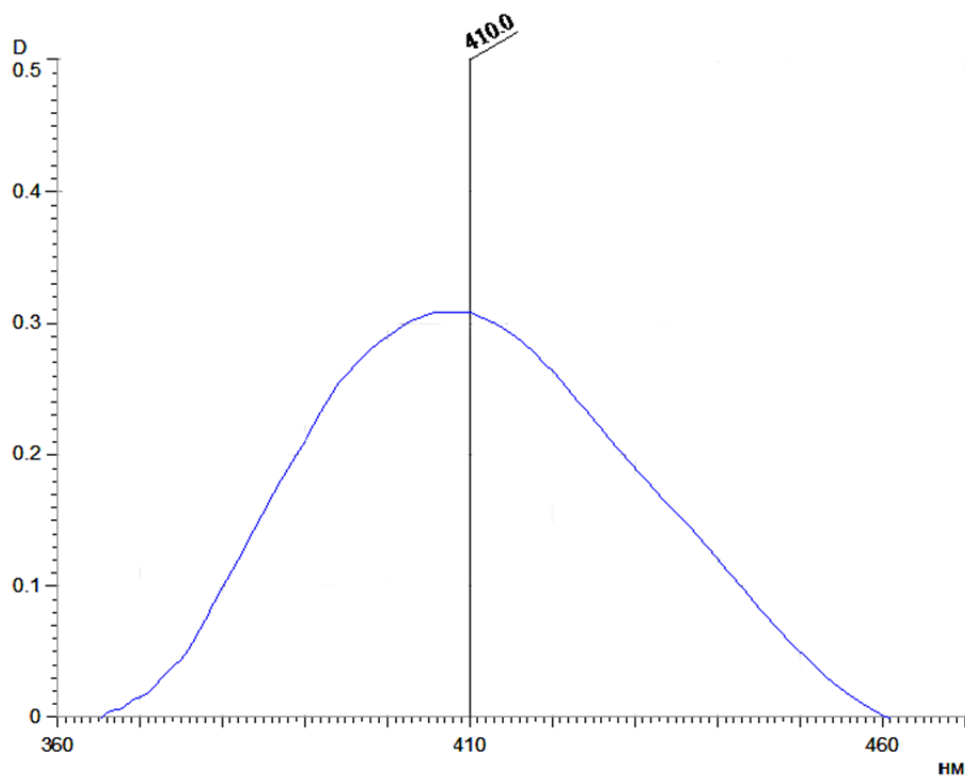


Рис. 2. УФ-спектр комплекса спиртового (70%) извлечения полыни метельчатой травы с алюминия (III) хлоридом.

Fug. 2. UV spectrum of the complex of alcohol (70%) extraction of *Artemisia scoparia* from aluminum (III) chloride.

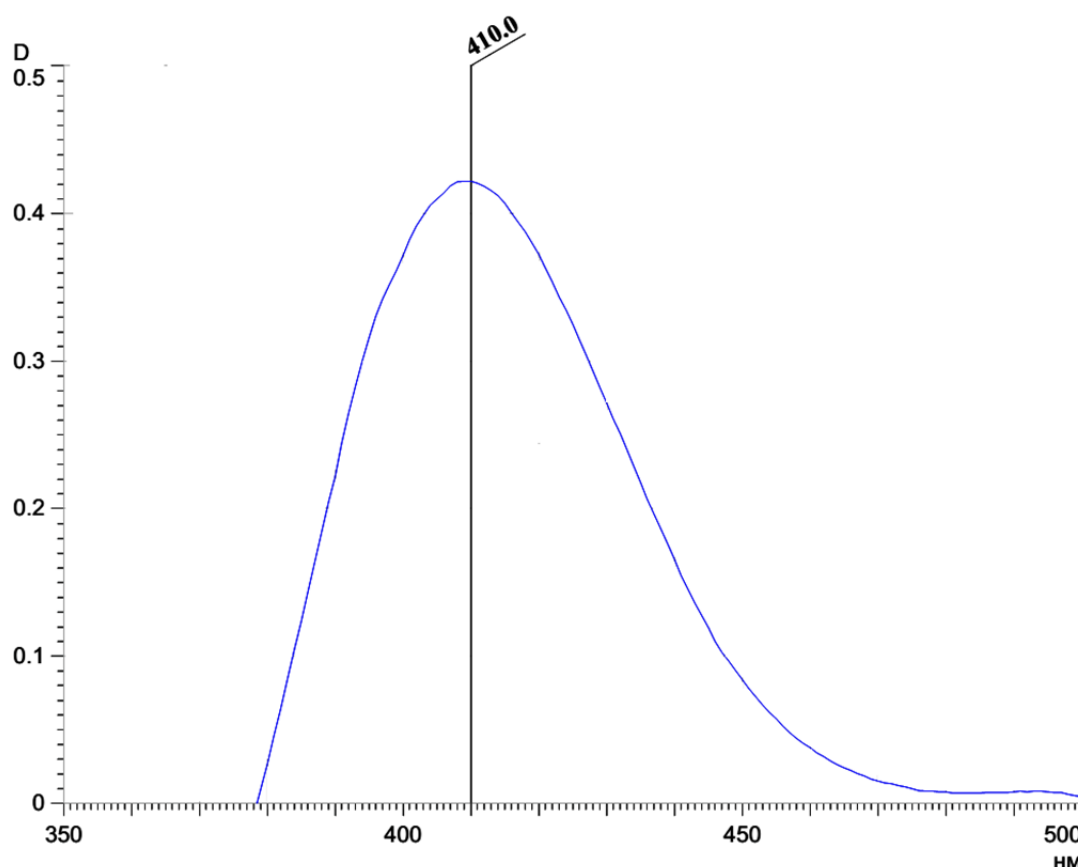


Рис. 3. УФ-спектр комплекса СО рутина с алюминия (III) хлоридом.

Fug. 3. UV spectrum of the CO complex of rutin with aluminum (III) chloride.

Поэтому в качестве раствора сравнения нами был использован спиртовой (70%) раствор СО рутина.

Изучение влияния условий экстракции на полноту извлечения флавоноидов из травы полыни метельчатой позволило установить, что значимыми параметрами являются: используемый экстрагент и его соотношение с сырьем, время экстракции и степень измельченности сырья (табл. 1).

При разработке методики количественного определения суммы флавоноидов необходимо было изучить влияние концентрации этилового спирта на выход флавоноидов полыни метельчатой травы (табл. 1).

Устойчивость комплекса определяли в интервале времени 10–45 минут. После 30-й минуты наблюдалось динамическое равновесие образующегося комплекса, которое сохранялось в течение 5 минут. Также проводили подбор аликвоты раствора А. Для изучения флавоноидов полыни горькой травы использовался объем аликвоты 5 мл, тогда как для полыни метельчатой травы этот объем давал высокую оптическую плотность (выше 1,0), что приводило к большой ошибке измерения. Поэтому экспериментальным путем подобрали необходимый объем раствора А, который составил 2 мл.

Результаты количественного определения суммы флавоноидов полыни метельчатой травы с использованием в качестве экстрагента 70% спирта представлены в таблице 2.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в образцах сырья полыни метельчатой травы составило $1,95 \pm 0,05$.

Таким образом:

1. В результате выполненных экспериментальных исследований уточнены оптимальные параметры и разработана методика, позволяющая оценивать качество сырья Полыни метельчатой трава по содержанию суммы флавоноидов.

2. Установлено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в образцах полыни метельчатой травы, заготовленных в фазу цветения в 2016-2020 гг. в Никитском ботаническом саду, составляет в среднем $1,95 \pm 0,05\%$ в пересчете на абсолютно сухое сырье.

3. Разработанная методика позволяет оценивать качество полыни метельчатой травы по содержанию одной из основных групп действующих веществ – флавоноидов.

Таблица 1

Table 1

Подбор оптимальных условий для количественного определения суммы флавоноидов в полыни метельчатой траве

Selected optimal conditions for determining the amount of flavonoids in *Artemisia scoparia* herb

Условие Condition	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, % The content of the total flavonoids in terms of rutin, %
Степень измельченности сырья, мм The degree of crushing of raw materials, mm	
0,5	1.75±0.10
1	1.93±0.05
2	1.85±0.11
3	1.89±0.12
Время экстракции, мин Extraction time, min	
10	1.65±0.11
20	1.74±0.10
30	1.94±0.05
40	1.83±0.10
Экстрагент Extractant	
Спирт этиловый 40% Ethyl alcohol 40%	1.15±0.11
Спирт этиловый 70% Ethyl alcohol 70%	1.95±0.05
Спирт этиловый 96% Ethyl alcohol 96%	0.85±0.11
Соотношение «сырье-экстрагент» The ratio of "raw material-extractant"	
1:50	1.84±0.11
1:60	1.93±0.05
1:70	1.89±0.12
Объем добавляемого раствора алюминия хлорида спиртового 2%, мл The volume of the added solution of aluminum chloride alcohol 2%, ml	
2	1.78±0.12
3	1.82±0.10
4	1.92±0.05
5	1.85±0.11
Время комплексообразования при добавлении раствора алюминия хлорида спиртового 2%, мин Time of complexation when adding a solution of aluminum chloride alcohol 2%, min	
25	1.85±0.11
30	1.94±0.05
35	1.88±0.10
40	1.78±0.12

Таблица 2

Table 2

Результаты количественного определения суммы флавоноидов в образцах полыни метельчатой травы
($a_{ст} = 0,05000$, $A_{ст} = 0,4220$), ($n=6$)

The results of quantitative determination of the amount of flavonoids in samples of *Artemisia scoparia* herb
($a_{st} = 0.05000$, $A_{st} = 0.4220$), ($n=6$)

№ образца Sample No.	A_x , при 410 нм A_x , at 410 nm	Содержание суммы флавоноидов, % The content of the sum of flavonoids, %	Метрологические характеристики Metrological characteristics
1	0.3082	1.96	$\bar{X} = 1.95\%$ $SD = 0.0467$ $RSD = 2.40$
2	0.3102	1.97	
3	0.3072	1.95	
4	0.3113	1.98	
5	0.2911	1.85	
6	0.3113	1.98	

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Коновалов Д.А. Ароматические полиацетиленовые соединения сем. Asteraceae и их хемотаксономическое значение. *Растительные ресурсы*. 1996;(4):84–98. [Konovalov D.A. Aromatic polyacetylene compounds of the Asteraceae and their chemotaxonomic significance. *Plant resources*. 1996;4:84–98 (in Russ.)]. EDN: RZQDFD
2. Коновалов Д.А. Природные полиацетиленовые соединения. *Фармация и фармакология*. 2014;(45):23–48. [Konovalov D.A. Natural polyacetylene compounds. *Pharmacy and pharmacology*. 2014;(45):23–48 (in Russ.)]. EDN: TAQVIZ
3. Коновалова О.А., Коновалов Д.А., Кабанов В.С., Рыбалко К.К., Шейченко В.И. Состав эфирного масла *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. *Растительные ресурсы*. 1989;25(3):404–410. [Konovalova O.A., Konovalov D.A., Kabanov V.S., Rybalko K.K., Sheichenko V.I. The composition of the essential oil of *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. *Plant resources*. 1989;25(3):404–410 (in Russ.)]. EDN: STEHBZ
4. Konovalov D.A., Chelombit'ko V.A. The composition of essential oil of *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. during growth. *Rastitelnye Resursy*. 1991;27(1):135–139. EDN: RZPVXD
5. Ai X., Fu L., Tan X., Zhang A., Fan H. Therapeutic Effect of Modified Compound Yinchen Recipe for Chronic Severe Hepatitis. *Guangzhou Zhongyiyao Daxue Xuebao*. 2013;30:145–148
6. Nigam M., Atanassova M., Mishra A. P., Pezzani R., Devkota H. P., Plygun S., Salehi B., Setzer W.N., Shar-

ifi-Rad J. Bioactive compounds and health benefits of *Artemisia* species. *Natural Product Communications*. 2019;(14):7

7. Ding J., Wang L., He C., Zhao J., Si L., Huang H. *Artemisia scoparia*: Traditional uses, active constituents and pharmacological effects. *J Ethnopharmacol*. 2021;273:113960. DOI: 10.1016/j.jep.2021.113960
8. Cai Y., Zheng Q., Sun R., Wu J., Li X., Liu R. Recent progress in the study of *Artemisiae Scopariae Herba* (Yin Chen), a promising medicinal herb for liver diseases. *Biomed Pharmacother*. 2020;130:110513. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110513
9. Liu Y.P. Research progress on pharmacological effect of *Artemisiae Scopariae Herba*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*. 2019;2235–2241.
10. Boakye D., Shaheen S., Nawaz H., Nisar S., Azeem M. *Artemisia scoparia*: A review on traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties. *International Journal of Chemical and Biochemical Science*. 2017;12:92–97
11. Habib M., Waheed I. Evaluation of anti-nociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities of *Artemisia scoparia* hydromethanolic extract. *J Ethnopharmacol*. 2013;145(1):18–24. DOI: 10.1016/j.jep.2012.10.022
12. Hua Y., Yan L., Qiaoli Y., Yuzhu S., Xue W., Haitao B., Hua H. Effects of the total flavone of *Artemisia scoparia* on influenza A virus in vivo and in vitro. *Northwest Pharmaceutical Journal*. 2018;(33):193–196
13. Khan K., Fatima H., Taqi M.M., Zia M., ur-Rehman T., Mirza B., Haq I. Phytochemical and in vitro biological evaluation of *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit for enhanced extraction of commercially significant bioactive compounds. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2015;2:77–86. DOI: 10.1016/j.jarmap.2015.04.002
14. Singh D., Rawat M., Garg G., Saraf S., Saraf S. *Artemisia scoparia*: A review. *Pharmacognosy Magazine*. 2006;(2):27–30

15. Tian M., Row K. Separation of four bioactive compounds from herba artemisiae scopariae by HPLC with ionic liquid-based silica column. *J Analitical Chemistry*. 2011;(66):580–585. DOI: 10.1134/S1061934811060207
16. Xie T., Liang J., Liu J. Research progress of artemisia scoparia and Artemisia capillaris on chemical constituents and pharmacological effect. *Strait Pharmaceutical Journal*. 2004;(16):8–13
17. Janbaz K.H., Saeed S.A., Gilani A.H. Protective effect of rutin on paracetamol and CCl₄-induced hepatotoxicity in rodents. *Fitoterapia*. 2002;(73):557–563. DOI: 10.1016/S0367-326X(02)00217-4
18. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Том IV. Москва: Федеральная электронная медицинская библиотека [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition. Vol. XIV. Moscow: Federal electronic medical library (in Russ.)]. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/>

Поступила в редакцию 25.04.2022

Подписана в печать 22.06.2022

Для цитирования: Айрапетян Э.Э., Леонова В.Н., Коновалов Д.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в Полыни метельчатой траве. *Человек и его здоровье*. 2022;25(2):105–112. DOI: 10.21626/vestnik/2022-2/10

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE AMOUNT OF FLAVONOIDS IN *ARTEMISIA SCOPARIA* HERB

© Airapetyan E.E., Leonova V.N., Konovalov D.A.

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of Volgograd State Medical University (PMPhI – a branch of the VolgSMU)

11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Stavropol region, 357532, Russian Federation

Plants of the genus *Artemisia* have a rich complex of biologically active compounds, among which essential oils, sesquiterpene lactones, flavonoids, and acetylenic compounds predominate. Particular attention is drawn to *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. Due to a wide range of therapeutic activity, wormwood paniculata is used as a choleric, hepatoprotective, antimicrobial, anti-inflammatory agent.

Flavonoids are one of the leading groups of biologically active compounds (BAS) in water and water-alcohol extracts from the aerial part of *Artemisia scoparia*. These compounds have powerful hepatoprotective, choleric, anti-inflammatory, antiviral effects.

Objective: development of a method for quantitative determination of the amount of flavonoids in the herb *Artemisia scoparia*.

Materials and methods. The object of the study was *Artemisia scoparia* herb, collected in the flowering phase in the Nikitsky Botanical Garden in 2016-2020. Quantitative determination of the amount of flavonoids in raw materials was carried out by UV spectroscopy.

Results. It has been established that the differential spectrum of the complex compound of the studied extract with aluminum chloride does not differ in terms of the position of the light absorption maximum (410 nm) from the differential spectrum of the complex of rutin with aluminum ions. The content of total flavonoids in terms of rutin in *Artemisia scoparia* herb was $1.95\% \pm 0.05$.

Conclusion. A method has been developed for the quantitative determination of the amount of flavonoids in the raw material of *Artemisia scoparia* by UV spectrophotometry in terms of rutin.

Keywords: *Artemisia scoparia*; flavonoids; rutin; UV spectrophotometry.

Airapetyan Emma E. – post-graduate student of the Department of Pharmacognosy, Botany and Technology of Phytopreparations, PMPhI – a branch of the VolgSMU, Pyatigorsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-4435-7074. E-mail: airapetyan0505@mail.ru (correspondence author)

Leonova Victoria N. – Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor of the Department of Toxicological and Analytical Chemistry, PMPhI – a branch of the VolgSMU, Pyatigorsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-0862-6628. E-mail: sheryfka@mail.ru

Konovalov Dmitry A. – Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Head of the Department of Pharmacognosy, Botany and Technology of Phytopreparations, PMPhI – a branch of the VolgSMU, Pyatigorsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-0960-6127. E-mail: d.a.konovalov@pmedpharm.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

Received 25.04.2022

Accepted 22.06.2022

For citation: Airapetyan E.E., Leonova V.N., Konovalov D.A. Development of a method for quantitative determination of the amount of flavonoids in *Artemisia scoparia* herb. *Humans and their health*. 2022;25(2):105–112. DOI: 10.21626/vestnik/2022-2/11