

## РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ МНОГОКОЛОСНИКА МОРЩИНИСТОГО

© Курдюков Е.Е., Гаранина Е.О., Митишев А.В., Моисеева И.Я., Микурова А.А.

Пензенский государственный университет (ПГУ)

Россия, 440026, Пензенская область, г. Пенза, ул. Красная, д. 40

**Цель** – разработка методики суммарного содержания флавоноидов в траве многоколосника морщинистого методом дифференциальной спектрофотометрии.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служила высушенная трава *Agastache rugosa*, выращенная в условиях Пензенского региона. Количественное определение проводили методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 385 нм с использованием в качестве стандарта цинарозид.

**Результаты.** Установлены оптимальные условия экстракции флавоноидов: экстрагент – спирт этиловый 70%, соотношение «сырье – экстрагент» – 1:50, время экстракции – 60 минут, степень измельченности сырья – 1,0 мм. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид составило  $2,80 \pm 0,06\%$ . Проведена валидационная оценка методики по показателям линейность, прецизионность и правильность; относительная погрешность единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет  $\pm 2,68\%$ .

**Заключение.** Разработанная методика может быть использована для стандартизации травы многоколосника морщинистого как перспективного источника флавоноидов. Данная методика позволяет оценивать качество многоколосника морщинистого травы по содержанию одной из основных групп действующих веществ – флавоноидов.

**Ключевые слова:** многоколосник морщинистый; *Agastache rugosa*; флавоноиды; цинарозид; спектрофотометрия; валидация.

**Курдюков Евгений Евгеньевич** – канд. фарм. наук, доцент, доцент кафедры «Общая и клиническая фармакология», ПГУ, г. Пенза. ORCID iD: 0000-0001-9512-6770. E-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru (автор, ответственный за переписку).

**Гаранина Екатерина Олеговна** – ассистент кафедры «Общая и клиническая фармакология», ПГУ, г. Пенза. ORCID iD: 0009-0003-4200-7665. E-mail: ekaterina.garanina@inbox.ru

**Митишев Александр Владимирович** – ст. преподаватель кафедры «Общая и клиническая фармакология», ПГУ, г. Пенза. ORCID iD: 0000-0002-3327-9744. E-mail: span2361@rambler.ru

**Моисеева Инесса Яковлевна** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой «Общая и клиническая фармакология», ПГУ, г. Пенза. ORCID iD: 0000-0003-1168-2871. E-mail: amarulllla@gmail.com

**Микурова Анна Андреевна** – студент, ПГУ, г. Пенза. E-mail: amarulllla@gmail.com

В современной фармации поиск и исследование новых источников лекарственного растительного сырья является приоритетной задачей. Особый интерес представляют растения семейства Яснотковые (*Lamiaceae*), обладающие богатым химическим составом и широким спектром фармакологической активности. Одним из перспективных, но недостаточно изученных видов является многоколосник морщинистый (*Agastache rugosa*) – многолетнее травянистое растение, широко распространенное в Восточной Азии [1, 2].

В зарубежной медицине, особенно в Китае, Японии и Корее, *Agastache rugosa* традиционно используется как декоративное и лекарственное растение при лечении желудочно-кишечных, сердечно-сосудистых заболеваний, а также в качестве натурального анальгетика и гипотензивного средства [3, 4]. Современные исследования подтверждают наличие у экстрактов многоколосника антиоксидантных, противовоспалительных, антибактериальных, цитотоксических и кардиопротекторных свойств [5–7]. Установлено, что ключевую роль в реализации этих эффектов

играют фенольные соединения, в частности флавоноиды и фенилпропаноиды [8, 9].

Несмотря на доказанную фармакологическую ценность, трава многоколосника морщинистого до настоящего времени не включена в Государственную фармакопею Российской Федерации и не имеет утвержденных методов стандартизации. Для введения нового вида лекарственного растительного сырья в официальную медицинскую практику необходима разработка надежных и воспроизводимых методик количественного определения основных групп биологически активных соединений [10].

Наиболее распространенным и доступным методом анализа флавоноидов в растительном сырье является дифференциальная спектрофотометрия, основанная на реакции комплексообразования с хлоридом алюминия. Данный метод широко представлен в Государственной фармакопее РФ XV издания и успешно применяется для стандартизации многих видов лекарственных растений [11–13].

Цель работы – разработка методики суммарного содержания флавоноидов в траве многоко-

лосника морщинистого методом дифференциальной спектрофотометрии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования использовали высушенную надземную часть (траву) *Agastache rugosa* (многоколосника морщинистого), культивируемую в ботаническом саду имени И.И. Спрыгина, входящего в структуру Пензенского государственного университета. Сбор сырья осуществляли в период вегетации, после чего образцы подвергали воздушной сушке в защищенном от прямого солнечного света месте.

Экстракцию флавоноидных соединений из подготовленной травы выполняли методом однократной экстракции с использованием водно-спиртовых растворов различной концентрации. Процесс проводили при нагревании на кипящей водяной бане в течение 90 минут. Регистрацию спектров и измерение оптической плотности осуществляли на спектрофотометре марки СФ-103, используя кварцевые кюветы с длиной оптического пути 10 мм. В качестве раствора сравнения применяли соответствующий экстрагент (этиловый спирт).

Навеску измельченного сырья массой 1,0 г переносили в коническую колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 250 мл. Затем приливали 50 мл экстрагента – этилового спирта одной из исследуемых концентраций (95%, 70% или 40%). Колбу соединяли с обратным холодильником и помещали на кипящую водяную баню. Момент начала кипения экстрагента внутри колбы считали началом экстракции, которую продолжали 90 минут. После завершения нагревания извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр, предварительно смоченный тем же спиртом. Первые 10 мл фильтрата отбрасывали – полученный раствор обозначали как «раствор А».

Далее в мерную колбу объемом 25 мл отбирали 2,0 мл раствора А, добавляли 3 мл 3% раствора хлорида алюминия в 95% этаноле и спустя 10 минут вносили 1 мл разведенной уксусной кислоты. Объем жидкости в колбе доводили до метки экстрагентом (раствор Б). Для измерения оптической плотности раствор Б помещали в кварцевую кювету (толщина слоя 10 мм) и регистрировали спектрофотометрический сигнал при длине волны 385 нм. В качестве референсного (фонового) раствора использовали образец, приготовленный по той же методике, но без добавления анализируемого экстракта (т.е. раствор сравнения, идентичный по всем компонентам, кроме сырья).

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид и воздушно-сухое сырье в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times 100 \times 100}{2,0 \times m \times 361 \times (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса сырья, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья (влажность), %;

361 – удельный показатель поглощения цинарозида при 385 нм.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При создании методики количественного анализа флавоноидов в надземной части *Agastache rugosa* (многоколосника морщинистого) использовали реакцию комплексообразования с 3% раствором хлорида алюминия. В исходном извлечении максимум поглощения в электронном спектре наблюдается при  $330 \pm 2$  нм. Добавление комплексообразователя приводит к bathochromному сдвигу этой полосы в область больших длин волн (рис. 1). Аналитический максимум для исследуемого раствора фиксируется при  $385 \pm 2$  нм, что согласуется с известными литературными данными для комплекса цинарозида с  $AlCl_3$  [13, 16]. Этот факт позволил выбрать цинарозид в качестве стандартного образца (СО) при расчете суммарного содержания флавоноидов.

Для определения общего количества флавоноидов в экстракте травы многоколосника применяли удельный показатель поглощения цинарозида при  $\lambda = 385$  нм в условиях дифференциальной спектрофотометрии [8-10]. Величина удельного показателя поглощения  $E_{1\text{см}}^{1\%} = 361$  была использована в расчетной формуле.

Наиболее ответственным этапом при разработке методики стала оптимизация извлечения флавоноидов из растительного сырья. В ходе экспериментов оценивали влияние следующих факторов: концентрация экстрагента, размер частиц сырья, гидромодуль (соотношение «сырье – экстрагент») и продолжительность экстракции (табл. 1).

Установлено, что наибольшее содержание флавоноидов достигается при использовании в качестве экстрагента 70% этилового спирта. Применение 40% этанола приводит к снижению извлечения целевых компонентов ( $2,50 \pm 0,04\%$ ), что, вероятно, связано с меньшей степенью извлечения фенольных гликозидов.

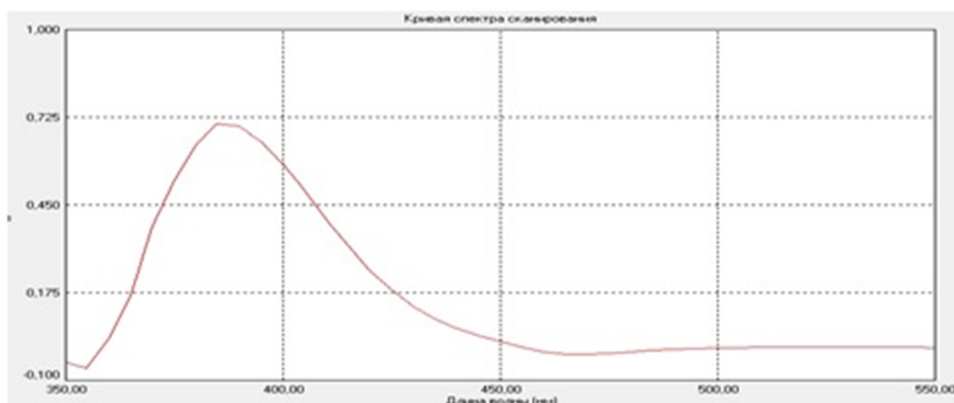


Рис. 1. Электронный спектр извлечения из надземной части многоколосника морщинистого с добавлением алюминия хлорида раствора 3%.

Fig. 1. The electronic spectrum of extraction from the aboveground part of the *Agastache rugosa* with the addition of aluminum chloride solution of 3%.

Таблица 1

Table 1

Подбор оптимальных условий для количественного определения суммы флавоноидов в многоколоснике морщинистом траве

Selected optimal conditions for determining the amount of flavonoids in *Agastache rugosa* herb

Условие Condition		Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид, % The content of the total flavonoids in terms of, %
Степень измельченности сырья, мм The degree of crushing of raw materials, mm	0.5	2.56±0.03
	1.0	2.62±0.04
	2.0	2.58±0.04
Экстрагент Extractant	Спирт этиловый 40% Ethyl alcohol 40%	2.50±0.04
	Спирт этиловый 70% Ethyl alcohol 70%	2.62±0.04
	Спирт этиловый 95% Ethyl alcohol 95%	1.80±0.03
Соотношение «сырье – экстрагент» The ratio of "raw material – extractant"	1:25	2.31±0.02
	1:50	2.80±0.04
	1:100	2.62±0.04
	1:200	2.70±0.03
Время экстракции, мин. Extraction time, min.	30	2.61±0.03
	60	2.80±0.04
	90	2.27±0.03

Использование 95% этанола также оказалось менее эффективным (1,80±0,03%), что может объясняться недостаточной растворимостью полярных соединений в высококонцентрированном спирте. Оптимальной степенью измельчения сырья признан размер частиц 1,0 мм. Более тонкое измельчение (0,5 мм) не приводит к статистически значимому увеличению выхода флавоноидов ( $p > 0,05$ ), тогда как более крупное (2,0 мм) снижает полноту экстракции. При соотношении «сырье – экстрагент» 1:50 достигается максимальное содержание флавоноидов – 2,80±0,04%. Увеличение объема экстрагента до 1:100 и 1:200 нецелесообразно, так как не сопровождается пропорциональным ростом выхода целевых компонентов.

Установлено, что оптимальная продолжительность экстракции составляет 60 минут. Сокращение времени до 30 минут приводит к неполному извлечению, а увеличение до 90 минут – к снижению содержания флавоноидов (2,27±0,03%), что может быть связано с их частичной деструкцией при длительном нагревании.

По результатам исследований установлены оптимальные параметры анализа: размер частиц сырья – 1,0 мм; экстрагент – 70% этиловый спирт; гидромодуль – 1:50; время экстракции – 60 мин. на кипящей водяной бане. В этих условиях содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид составило 2,80±0,06% (в расчете на абсолютно сухое сырье). Метрологическая оценка

показала, что относительная погрешность единичного определения при доверительной вероятности 95% равна  $\pm 2,68\%$ .

Для предложенной методики проведена метрологическая оценка. На основе пяти параллельных определений (среднее значение  $\bar{X}_{ср}=2,80$ ) рассчитаны: дисперсия ( $S^2=0,004$ ), стандартное отклонение ( $S=0,060$ ), стандартное отклонение среднего результата ( $S_{\bar{X}_{ср}}=0,027$ ), относительное стандартное отклонение среднего результата ( $RSD=2,14\%$ ), полуширина доверительного интервала ( $\Delta\bar{X}_{ср}=0,074$ ). Погрешность среднего результата ( $\epsilon, \%$ ) для суммы флавоноидов в сырье многоколосника морщинистого с доверительной вероятностью 95% ( $P, \%$ ) составила  $\pm 2,68\%$  в пересчете на цинарозид.

На заключительном этапе проведена валидация разработанной методики в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» [12]. Оценены следующие валидационные характеристики: линейность, прецизионность (повторяемость и внутрилабораторная прецизионность) и правильность.

Линейность методики подтверждена в диапазоне концентраций от 40% до 120% от номинального значения. Коэффициент корреляции ( $R^2$ ) составил 0,9958 (рис. 2), что свидетельствует о линейной зависимости оптической плотности от концентрации флавоноидов.

На заключительном этапе разработки методики проведена ее валидация. Валидацию методики проводили в соответствии с ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» Государственной Фармакопеи РФ XV издания по показателям: линейность, прецизионность, правильность [8].

Прецизионность методики оценивали на уровне повторяемости (5 определений в одних и тех же условиях) и внутрилабораторной прецизионности (разные дни, разные аналитики). Относительное стандартное отклонение (RSD) для повторяемости не превысило 2,62% (табл. 2),

для внутрилабораторной прецизионности – 3,10%, что соответствует критериям приемлемости ( $RSD < 10\%$ ).

Правильность методики подтверждена методом «введено – найдено» с использованием добавок стандартного образца цинарозида (табл. 3). Средний процент восстановления составил  $100,14 \pm 1,22\%$ , что находится в допустимых пределах ( $100 \pm 3\%$ ).

Таким образом, разработанная методика является линейной, прецизионной и правильной и может быть использована для количественного определения суммы флавоноидов в траве многоколосника морщинистого.

В результате мы пришли к следующим выводам:

представлена методика определения суммарного содержания флавоноидов в траве многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa*) методом дифференциальной спектрофотометрии. Аналитическая длина волны – 385 нм, стандартный образец – цинарозид.

Экспериментально обоснованы оптимальные условия экстракции флавоноидов из сырья: степень измельчения – 1,0 мм; экстрагент – спирт этиловый 70%; соотношение «сырье – экстрагент» – 1:50; время экстракции – 60 минут на кипящей водяной бане.

Установлено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид в траве *Agastache rugosa* составляет  $2,80 \pm 0,06\%$  (в пересчете на абсолютно сухое сырье). Относительная погрешность определения с доверительной вероятностью 95% не превышает  $\pm 2,68\%$ .

В результате валидационной оценки подтверждены линейность ( $R^2=0,9958$ ), прецизионность ( $RSD \leq 3,10\%$ ) и правильность (среднее восстановление 100,14%) разработанной методики, что свидетельствует о ее пригодности для целей стандартизации травы многоколосника морщинистого как перспективного источника флавоноидов.

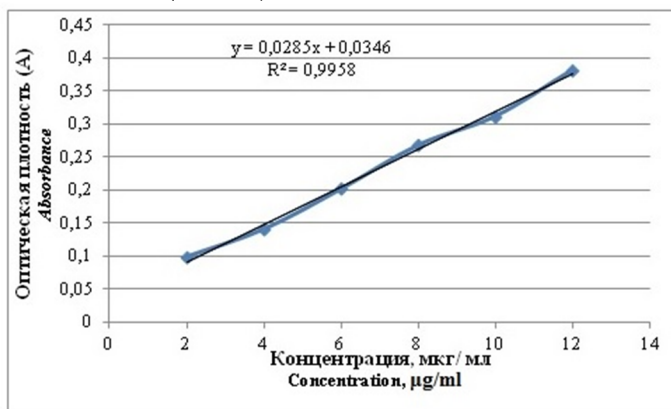


Рис. 2. Зависимость оптической плотности раствора от содержания суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид.

Fig. 2. The dependence of the optical density of the solution on the content of the sum of flavonoids in terms of cinaroside.

Таблица 2

Table 2

Валидационная оценка внутрилабораторной прецизионности методики определения суммы флавоноидов (P=95; n=5)

Validation evaluation of the intra-laboratory precision of the method for determining the amount of flavonoids (P=95; n=5)

Исследователь 1 Researcher 1	Исследователь 2 Researcher 2	Метрологические характеристики Metrological characteristics	
X, %	X, %	Исследователь 1 Researcher 1	Исследователь 2 Researcher 2
2.89	2.80	$\bar{X}.% = 2.81$ $S^2 = 0.005$ $S = 0.070$ $S\bar{X} = 0.031$ RSD. % = 2.49 $\Delta\bar{X} = 0.087$ $\varepsilon. \% = 3.10$	$\bar{X}.% = 2.79$ $S^2 = 0.004$ $S = 0.061$ $S\bar{X} = 0.027$ RSD. % = 2.19 $\Delta\bar{X}.% = 0.076$ $\varepsilon. \% = 2.70$
2.81	2.88		
2.88	2.72		
2.74	2.79		
2.75	2.75		

Примечание: P – доверительная вероятность; n – число параллельных проб.

Note: P is the confidence probability; n is the number of parallel samples.

Таблица 3

Table 3

Определение правильности методики

Determining the correctness of the methodology

Содержание флавоноидов, мг Flavonoid content, mg	Добавлено СО цинарозида, мг Added with cinaroside, mg	Ожидаемое содержание, мг Expected content, mg	Полученное содержание, мг Received content, mg	Открываемость, % Discoverability, %	Метрологические характеристики Metrological characteristics
28.0	0.5	28.50	28.34	99.43	$\bar{X}.% = 100,14$ $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 100,14 \pm 1,22\%$ $\varepsilon = 1,22\%$ P=95%; n=5; f=4;
	1.0	29.00	29.22	100.76	
	1.5	29.50	29.74	100.81	
	2.0	30.00	29.63	98.77	
	2.5	30.50	30.79	100.95	

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Данная работа финансировалась за счет средств гранта Российского научного фонда, проект № 24-25-20155.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Курдюков Е.Е. – планирование исследования, сбор данных, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка черновика рукописи; Моисеева И.Я. – разработка концепции и дизайна исследования, окончательное утверждение для публикации рукописи; Гаранина Е.О. – анализ и интерпретация данных, написание текста статьи; Митишев А.В. – интерпретация полученных данных, подготовка черновика рукописи; Микурова А.А. – анализ литературы.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Сапарклычева С.Е. Виды лопанта (*Lophanthus adans*), интродуцируемые на Среднем Урале. *Вестник биотехнологии*. 2020;1(22):19-24 [Saparklycheva S.E. Species of *Lophanthus adans* introduced in the Middle Urals. *Bulletin of Biotechnology*. 2020;1(22):19-24 (in Russ.)]. EDN: UOYULF.
- Котугин Е.К., Карпукхин М.Ю. Лопант тибетский. Совершенствование технологий возделывания на Среднем Урале. *Молодежь и наука*. 2019;(7-8):11 [Kotugin E.K., Karpukhin M.Y. Lofant of Tibet. Improvement of cultivation technologies in the Middle Urals. *Youth and science*. 2019;(7-8):11 (in Russ.)]. EDN: PZJMOL.
- Котугин Е.К., Карпукхин М.Ю. Лопант тибетский. Лекарственная культура многопланового использования. *Молодежь и наука*. 2019;(9):33 [Kotugin E.K., Karpukhin M.Y. Lofant of Tibet. Medicinal culture of multifaceted use. *Youth and science* 2019;(9):33 (in Russ.)]. EDN: FFKMRS.
- Абрамчук А.В., Сапарклычева С.Е., Чулкова В.В. Продуктивность лопанта тибетского (*Agastache rugosa*) в зависимости от агротехнических прие-

- мов возделывания в условиях интродукции на Среднем Урале. *Аграрный вестник Урала*. 2020;(S14):2-9 [Abramchuk A.V., Saparklycheva S.E., Chulkova V.V. Productivity of Tibetan lofantus (*Agastache rugosa*) depending on agrotechnical methods of cultivation under conditions of introduction in the Middle Urals. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2020;(S14):2-9 (in Russ.)]. DOI: 10.32417/1997-4868-2021-14-2-9. EDN: XBXYKYB.
5. Ляхова С.А., Абрамчук А.В. Структура лекарственного сырья лопуха тибетского в зависимости от сроков посева. *Молодежь и наука*. 2017;(6):74 [Lyakhova S.A., Abramchuk A.V. The structure of medicinal raw materials of Tibetan lofantus depending on the timing of sowing. *Youth and science*. 2017;(6):74 (in Russ.)]. EDN: YMGUOL.
  6. Gong H., Li S., He L., Kasimu R. Microscopic identification and in vitro activity of *Agastache rugosa* (Fisch. et Mey) from Xinjiang, China. *BMC Complement Altern Med*. 2017;17(1):95. DOI: 10.1186/s12906-017-1605-7.
  7. Gong H., Zhou X., Zhu M., Ma X., Zhang X., Tian S. Constituents of essential oil from the dried flower and leaf of *Agastache rugosa* (Fisch. et Mey) from Xinjiang, in China. *J Essent Oil Bear Plants*. 2012;15(4):534-538.
  8. Государственная фармакопея РФ, XV изд., МЗ РФ, Москва (2023) [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XV ed., Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow (2023)]. URL: [https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/?PAGEN\\_1=5](https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/?PAGEN_1=5)
  9. Соснина С.А., Левинова В.Ф., Одегова Т.Ф. Фитохимический и микробиологический анализ настоев листьев различных видов рода *Plantago L.* *Современные проблемы науки и образования*. 2013;(3):359 [Sosnina S.A., Levinova V.F., Odegova T.F. Phytochemical and microbiological analysis of infusions of leaves of various species of the genus *Plantago L.* *Modern problems of science and education*. 2013;(3):359 (in Russ.)]. EDN: RPOOCR.
  10. Курдюков Е.Е., Плешакова Д.А., Глебова Н.Н. Флавоноиды: классификация, биологические свойства и перспективы использования в медицине. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2023;11(137) [Kurdyukov E.E., Pleshakova D.A., Glebova N.N. Flavonoids: classification, biological properties and prospects of use in medicine. *International Scientific Research Journal*. 2023;11(137) (in Russ.)]. DOI: 10.23670/IRJ.2023.137.143. EDN: OKYGFV.
  11. Куркин В.А., Куркина А.В., Авдеева Е.В. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений. *Фундаментальные исследования*. 2013;(11-9):1897–1901 [Kurkin V.A., Kurkina A.V., Avdeeva E.V. Flavonoids as biologically active compounds of medicinal plants. *Fundamental research*. 2013;(11-9):1897–1901 (in Russ.)]. EDN: RWHBST.
  12. Куркина А.В. Подходы и стандартизация сырья, содержащего флавоноиды. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2013;(5):38 [Kurkina A.V. Approaches and standardization of raw materials containing flavonoids. *Issues of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2013;(5):38 (in Russ.)].
  13. Митишев А.В., Феднина А.С., Родина О.П. Разработка методики количественного определения флавоноидов в траве гречихи красностебельной (*Fagopyrum rubricaulis*). *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2024;23(4):205-211 [Mitishev A.V., Fednina A.S., Rodina O.P. Development of a technique for the quantitative determination of flavonoids in red-stem buckwheat grass (*Fagopyrum rubricaulis*). *Bulletin of the Smolensk State Medical Academy*. 2024;23(4):205-211 (in Russ.)]. DOI: 10.37903/vsgma.2024.4.25. EDN: UMWAOS.
  14. Nechita M-A., Toiu A., Benedec D., Hanganu D., Ielciu I., Oniga O., Nechita V-I., Oniga I. Agastache Species: A Comprehensive Review on Phytochemical Composition and Therapeutic Properties. *Plants*. 2023;16:2937. DOI 10.3390/plants12162937.
  15. Bielecka M., Zielińska S., Pencakowski B., Stafiniak M., Ślusarczyk S., Prescha A., Matkowski A. Age-Related Variation of Polyphenol Content and Expression of Phenylpropanoid Biosynthetic Genes in *Agastache rugosa*. *Ind. Crops Prod*. 2019;141:111743.
  16. Куркин В.А., Правдивцева О.Е., Морозова Т.В., Куркина А.В., Шайхутдинов И.Х., Кретова А.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в цветках боярышника полумягкого. *Химия растительного сырья*. 2019;3:137–144 [Kurkin V.A., Pravdivtseva O.E., Morozova T.V., Kurkina A.V., Shaikhutdinov I.Kh., Kretova A.A. Development of a methodology for quantitative determination of the amount of flavonoids in the flowers of the semi-soft hawthorn. *Chemistry of plant raw materials*. 2019;3:137–144 (in Russ.)]. DOI: 10.14258/jcprm.2019035201. EDN: LLZSBZ.
  17. 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. [Ayrapetyan E.E., Leonova V.N., Kononov D.A. Development of a technique for quantitative determination of the amount of flavonoids in wormwood paniculate grass. *Man and his health*. 2022;25(2):105–112. (in Russ.)]. DOI: 10.21626/vestnik/2022-2/11. EDN: XDBUEA.
  18. 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):159–166 [Kurkin V.A., Khusainova A.I., Kurkin A.V., Bakova N.N., Bakova E.Y. Development of a technique for quantitative determination of the amount of flavonoids in myrtle leaves. *Chemistry of plant raw materials*. 2021;(1):159–166 (in Russ.)]. DOI: 10.14258/jcprm.2021017423. EDN: MTZWKV.
  19. Васькова А.И., Куркин В.А. Разработка подходов к стандартизации травы тысячелистника обыкновенного.

венного. *Фармация*. 2022;71(4):12–18 [Vaskova A.I., Kurkin V.A. Development of approaches to standardization of yarrow grass. *Pharmacy*. 2022;71(4):12–18 (in Russ.)]. DOI: 10/29296/25419218-2022-04-02. EDN: KIQDEA.

20. Иванцова Л.В., Белоногова В.Д., Гилева А.А. Определение флавоноидов в листьях персика обыкновенного: валидация методики. *Фармация*.

2018;67(7):27–31 [Ivantsova L.V., Belonogova V.D., Gileva A.A. Determination of flavonoids in peach leaves: validation of the methodology. *Pharmacy*. 2018;67(7):27–31 (in Russ.)]. DOI: 10.29296/25419218-2018-07-05. EDN: YMBZDF.

Поступила в редакцию 08.04.2026

Подписана в печать 25.06.2026

**Для цитирования:** Курдюков Е.Е., Гаранина Е.О., Митишев А.В., Моисеева И.Я., Микурова А.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве многоколосника морщинистого. *Человек и его здоровье*. 2026;29(2):74–80. DOI: 10.21626/vestnik/2026-2/10. EDN: UXTYRG.

## DEVELOPMENT OF A TECHNIQUE FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE AMOUNT OF FLAVONOIDS IN THE HERB OF AGASTACHE RUGOSA

© Kurdyukov E.E., Garanina E.O., Mitishev A.V., Moiseeva I.Ya., Mikurova A.A.

**Penza State University (PSU)**

3, Krasnaya Str., Penza, Penza region, 440026, Russian Federation

**Objective** – to develop a methodology for the total content of flavonoids in the herb of *Agastache rugosa* by differential spectrophotometry.

**Materials and methods.** The object of the study was dried grass *Agastache rugosa*, grown in the Penza region. Quantitative determination was performed by differential spectrophotometry at a wavelength of 385 nm using cinaroside as a standard.

**Results.** Optimal conditions for flavonoid extraction have been established: 70% ethyl alcohol extractant, 1:50 ratio of "raw material – extractant", extraction time – 60 minutes, degree of grinding of raw materials – 1.0 mm. The amount of flavonoids in terms of cinaroside was  $2.80 \pm 0.06\%$ . A validation assessment of the methodology was carried out in terms of linearity, precision and accuracy; the relative error of a single determination with a confidence probability of 95% is  $\pm 2.68\%$ .

**Conclusion.** The developed technique can be used to standardize the herb mulberry as a promising source of flavonoids. This technique makes it possible to evaluate the quality of *Agastache rugosa* by the content of one of the main groups of active substances – flavonoids.

**Keywords:** *Agastache rugosa*; flavonoids; cinaroside; spectrophotometry; validation.

**Kurdyukov Evgeny E.** – Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor, Associate Professor of the Department of General and Clinical Pharmacology, PSU, Penza, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-9512-6770. E-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru (corresponding author)

**Garanina Ekaterina O.** – Assistant lecturer of the Department of General and Clinical Pharmacology, PSU, Penza, Russian Federation. ORCID iD: 0009-0003-4200-7665. E-mail: ekaterina.garanina@inbox.ru

**Mitishev Alexander V.** – Senior lecturer at the Department of General and Clinical Pharmacology, PSU, Penza, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-3327-9744. E-mail: span2361@rambler.ru

**Moiseeva Inessa Ya.** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of General and Clinical Pharmacology, PSU, Penza, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-1168-2871. E-mail: amarullla@gmail.com

**Mikurova Anna A.** – Student, PSU, Penza, Russian Federation. E-mail: amarullla@gmail.com

### 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

This work was funded by a grant from the Russian Science Foundation, project No. 24-25-20155.

### AUTHORS CONTRIBUTION

Kurdyukov E.E. – research planning, data collection, analysis and interpretation of the data obtained, preparation of the draft manuscript; Moiseeva I.Ya. – development of the concept and design of the study, final approval for publication of the manuscript; Garanina E.O. – data analysis and interpretation, writing the text of the article; Mitishev A.V. – interpretation of the data obtained, preparation of the draft manuscript; Mikurova A.A. – literature analysis.

Received 08.04.2026

Accepted 25.06.2026

**For citation:** Kurdyukov E.E., Garanina E.O., Mitishev A.V., Moiseeva I.Ya., Mikurova A.A. Development of a technique for the quantitative determination of the amount of flavonoids in the herb of *Agastache rugosa*. *Humans and their health*. 2026;29(2):74–80. DOI: 10.21626/vestnik/2026-2/10. EDN: UXTYRG.