

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ ЛАТУКА КОМПАСНОГО (*LACTUCA SERRIOLA* L.)

© Бубенчиков Р.А., Кораблева Т.В.

Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

Статья посвящена стандартизации сырья латука компасного семейства Астровых (*Asteraceae*). Латук компасный (*Lactuca serriola* L.) – одно- или двулетнее травянистое растение, широко распространенное в областях Центрального Черноземья.

Целью работы явилась разработка методик идентификации и количественного определения флавоноидов в траве латука компасного.

Материалы и методы. Объект исследования – латука компасного трава, заготовленная в 2017-2018 году в фазу цветения. В основу метода качественной идентификации флавоноидов положена тонкослойная хроматография, основу количественного определения составляет спектрофотометрический метод.

Результаты. При проведении качественной идентификации установлены следующие условия: пластинки Sorbfil на алюминиевой подложке, объем нанесения исследуемого извлечения – 10 мкл, подвижная фаза: н. бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2), стандартное вещество – лютеолин-7-глюкозид (цинарозид), детектирование: обработка 5% раствором алюминия хлорида, просмотр в УФ-свете до и после обработки алюминия хлоридом. Валидация методики проведена по показателям: специфичность, робастность, воспроизводимость. Для количественного определения флавоноидов разработана спектрофотометрическая методика определения в пересчете на цинарозид, основанная на реакции комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом. Определены оптимальные условия экстрагирования: степень измельчения сырья – 1 мм, экстрагент – спирт этиловый 70%, время экстракции – 30 минут.

Заключение. Разработаны методики качественной идентификации и количественного определения флавоноидов в траве латука компасного. Содержание флавоноидов колебалось от $1,04 \pm 0,05\%$ до $1,58 \pm 0,07\%$. Ошибка единичного определения с вероятностью 95% не превышает 4,80%.

Ключевые слова: латук компасный, астровые, флавоноиды, стандартизация, хроматография, спектрофотометрия.

Бубенчиков Роман Александрович – д-р фарм. наук, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники, КГМУ, г. Курск. E-mail: bubenhikova.ksmu@yandex.ru

Кораблева Татьяна Владимировна – аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники, КГМУ, г. Курск.

Латук компасный (*Lactuca serriola* L.) – растение семейства Астровые (*Asteraceae*), подсемейства Латуковые (*Lactucoideae*).

Растения рода латук включают 147 различных видов растений, характеризующихся большим разнообразием морфологических признаков и жизненных форм. Жизненные формы растений данного рода представлены однолетними, двулетними, многолетними травянистыми растениями и кустарниками [8, 15]. Растения рода имеют 5-зубчатые язычковые цветки желтого, синего или фиолетового цвета. Общим признаком для данных растений являются наличие млечного сока (латекса), содержащегося в млечниках [4, 8].

Среди растений рода латук на территории средней полосы европейской части России произрастает 6 видов: латук татарский, латук сибирский, латук солончаковый, латук дубравный, латук дикий или компасный, латук посевной. Наибольшее распространение среди них в областях Центрального Черноземья имеет латук дикий или компасный (*Lactuca serriola* L.). Это растение впервые было описано К. Линнеем

в 1756 году, а в 1763 году ему был дан синоним – латук дикий (*Lactuca scariola* L.). Латук компасный – это однолетнее, реже двулетнее травянистое растение с прямостоячим бороздчатым стеблем желтоватого или беловатого цвета. Листья имеют продолговатую форму, чаще всего перистолопастные с двумя-четырьмя парами зубчатых лопастей, реже цельные, особенно в верхней части, полустеблеобъемлющие, с ушками у основания. Листовые пластинки расположены вертикально. Стебель и листья снизу в нижней части листа по главной жилке покрыты жесткими желтоватыми щетинками. Цветки язычковые, обоополье, желтого цвета, собраны в корзинки, образующие щитковидно-метельчатое соцветие. Плод – семянка с летучкой из волосков [8].

Латук компасный – рудеральное растение, распространен в европейской части России, кроме Крайнего Севера, на юге Сибири, на Кавказе [4].

Произрастает на сорных местах, по пустырям вблизи жилья, вдоль дорог, по залежам, в огородах, садах, посевах зерновых [4].

Трава латука компасного в виде настоя в народной медицине применяется в качестве обезболивающего, успокаивающего, жаропонижающего, слабительного и диуретического средства [1, 6]. С этой же целью находят применение и млечный сок растения. Экспериментальные исследования показали, что метанольный экстракт латука компасного проявляет спазмолитическое, бронхолитическое, сосудорасширяющее и противоопухолевое действие [9-11]. Терпеновые соединения растения обладают противовоспалительной, противоопухолевой, противомаларийной, цитотоксической, антибактериальной активностями [10].

Флавоноиды: лютеолин, кверцетин, кверцетин-3-О- β -D-глюкопиранозид, лютеолин-7-О- β -D-глюкопиранозид, кемпферол, а также сесквитерпен 11/3,13-дигидролактучин показали антиоксидантное действие при взаимодействии с 1,1-дифенилпикрилгидразилом [12].

Что же касается сведений о химическом составе, то они немногочисленны и исследования проводились в основном зарубежными учеными. Во всех частях растения, в том числе и в млечном соке, найдены сесквитерпеновые лактоны; листья и стебли содержат тритерпеноиды; в надземной части обнаружены стероиды; в листьях идентифицируют флавоноиды, в семенах содержится жирное масло [6, 12-14, 16]. До настоящего времени не установлены действующие вещества латука компасного и не проведена его стандартизация.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом настоящего исследования явилась высушенная, а затем измельченная трава латука компасного. Данное сырье было заготовлено в 2017-2018 годах в фазу цветения (начало цветения) в окрестностях г. Курска. При этом были собраны и гербарные образцы, которые хранятся на кафедре фармакогнозии и ботаники Курского государственного медицинского университета. Заготовку сырья проводили срезанием верхушек до 30 см без толстых и грубых стеблей и срыванием стеблевых листьев. Сушили на воздухе в тени, разложив заготовленное сырье в один слой. Далее сырье измельчали, просеивали сквозь сито и методом квартования выделяли среднюю пробу для проведения анализов [3].

Цель работы заключается в разработке методики идентификации и количественного определения флавоноидов травы латука компасного как одной из групп биологически активных веществ.

Одним из обязательных разделов фармакопейных статей на лекарственное растительное

сырье является раздел «Определение групп биологически активных веществ», включающий идентификацию основных групп биологически активных веществ с использованием современных аналитических методов [7]. Для идентификации флавоноидов в траве латука нами был выбран метод тонкослойной хроматографии, при котором основным аспектом является использование стандартизированной процедуры, включающей применение стандартных веществ, унифицированных подвижных фаз, а также проявляющих реактивов.

При разработке методики идентификации флавоноидов в траве латука компасного исследование проводили по следующим параметрам:

- выбор способа экстрагирования флавоноидов;
- выбор системы растворителей (подвижной фазы), позволяющей обеспечить наиболее полное разделение зон адсорбции, четкости пятен исследуемых извлечений;
- выбор аликвоты для нанесения на хроматографическую пластинку исследуемых извлечений;
- выбор стандартных веществ;
- выбор проявляющего реактива.

При выборе способа экстрагирования флавоноидов из травы латука компасного экстракцию проводили двумя способами, которые наиболее часто используются в государственной фармакопее XIV издания [2].

➤ При первом способе 1,0 г измельченного сырья и 10 мл спирта этилового различной концентрации (96%, 70%, 50%) нагревали на водяной бане 10 минут, затем полученное извлечение охлаждали и фильтровали.

➤ При втором способе использовали извлечение, которое готовится для количественного определения: навеска 1,0 г сырья заливается различными объемами (от 2,5 мл до 100 мл) спирта этилового (мы использовали 100 мл 70% этого растворителя) и экстрагируется либо до полного истощения сырья, либо до наступления равновесия (мы использовали экстракцию до наступления равновесия). Далее извлечение охлаждали и фильтровали [2].

Для хроматографического исследования использовали пластинки «Sorbfil» со слоем силикагеля различных серий и на различных основах: алюминиевой и полиэтилентерефталатной. Исследуемые извлечения наносили на пластинки «Sorbfil» с использованием микрошприца в объемах 10, 20, 30 и 50 мкл, а растворы стандартных веществ в количестве 10 мкл в виде полос 10x2 мм. Пластинки с нанесенными пробами высушивали, а затем помещали в камеру: сразу после внесения в нее системы растворителей,

а также после насыщения камеры в течение 30 минут и 60 минут.

При выборе стандартных веществ учитывали данные литературы по содержанию флавоноидов в латуке компасном, в результате чего были выбраны стандартные вещества: лютеолин (Фитопанацея), цинарозид (Фитопанацея), кверцетин (USP reference standard).

В качестве системы растворителей использовали:

- 1) этилацетат – муравьиная кислота безводная – вода (70:15:15);
- 2) бензол – уксусная кислота – вода (4:1:2);
- 3) н. бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2).

В качестве проявляющего реактива применяли раствор алюминия хлорида 5% спиртовый. Пластинку после хроматографирования высушивали на воздухе, отмечали флюоресцирующие зоны флавоноидов в УФ-свете, а затем обрабатывали раствором алюминия хлорида 5% спиртовым, снова высушивали на воздухе и далее просматривали в УФ-свете, отмечали изменение окраски и появление новых пятен.

Для количественного определения флавоноидов в траве латука компасного нами была разработана методика спектрофотометрического определения, основанная на реакции комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом, при этом наблюдается bathochromный сдвиг полосы поглощения с 330-350 нм до 390-430 нм. При разработке методики использовали дифференциальный вариант спектрофотометрии, применяя в качестве раствора сравнения исходные извлечения без добавления к нему алюминия хлорида, что позволило нам исключить стадию очистки извлечения от сопутствующих веществ, содержащихся в извлечении и имеющих оптическую плотность в области максимума поглощения. При проведении реакции комплексообразования к пробам прибавляли уксусную кислоту для улучшения воспроизводимости результатов исследования.

Разработка методики включала в себя установление оптимальных условий экстракции флавоноидов, установление максимума поглощения комплекса флавоноидов травы латука компасного с алюминия хлоридом и изучение условий спектрофотометрирования образующегося комплекса.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор способа экстрагирования для качественной идентификации показал, что и при первом способе нагревании на кипящей водяной бане 10 минут, и при втором получают примерно одинаковые хроматографические

профили, в связи с чем мы выбрали первый способ экстрагирования как менее затратный во времени.

При исследовании систем растворителей была выбрана система растворителей: бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2), так как при ее использовании наблюдается лучшее разделение зон флавоноидов на хроматограммах исследуемого извлечения.

Для исследования были использованы хроматографические пластинки «Sorbfil» на алюминиевой подложке. При исследовании наносимых объемов 10 мкл, 20 мкл, 30 мкл, 50 мкл установили, что лучшее разделение наблюдается при нанесении 10 мкл, поэтому в дальнейшем мы использовали этот объем. При исследовании влияния насыщенности камеры на разделение флавоноидов установлено, что лучше разделяются флавоноиды при насыщении камеры, а вот время насыщения – 30 мин и 60 мин – значения не имеет.

Для установления хроматографического профиля было исследовано 5 образцов травы латука компасного и выявлены 3 основные зоны, которые по значению R_f , флюоресценции соответствовали лютеолин-7-глюкозиду (цинарозид), и две зоны голубого цвета, отнесенные к гидроксикоричным кислотам. В связи с чем в качестве стандартного вещества выбран лютеолин-7-глюкозид (цинарозид).

Зоны, которые соответствовали лютеолину и кверцетину, были слабо выражены и присутствовали не на всех хроматограммах. Поэтому мы решили стандартные образцы лютеолина и кверцетина не включать в раствор сравнения для идентификации флавоноидов методом тонкослойной хроматографии.

В качестве проявляющего реактива использовали раствор алюминия хлорида спиртовый 5%. Хроматографическую пластинку после хроматографирования, высушивания и просмотра в УФ-свете обрабатывали проявляющим реактивом, высушивали на воздухе и снова просматривали в УФ-свете.

Валидацию разработанной методики идентификации флавоноидных соединений проводили по таким характеристикам, как воспроизводимость, робастность и специфичность [5].

Воспроизводимость методики определяли сравнением хроматографических профилей исследуемых образцов латука, полученных на пластинках различных серий двумя анализаторами и в разные дни. Результаты проведенного исследования показали, что хроматографические профили, полученные в описанных условиях, были идентичными по значению R_f , последовательности расположения зон, их размеру и интенсивности окраски.

При изучении специфичности сравнивали хроматографические профили исследуемых извлечений из сырья с зонами вещества – стандарта. При этом было установлено, что выбранное стандартное вещество может быть использовано для стандартизации сырья латука, так как расположение его зоны охватывает среднюю часть хроматографической пластинки, что позволит объективно описывать расположение зон флавоноидов относительно зоны стандарта.

Робастность изучали по определению влияния насыщенности хроматографической камеры на разделение зон флавоноидов. Хроматографические пластинки с нанесенными извлечениями помещали в ненасыщенную камеру, а также в камеры, насыщенные в течение 30 минут и 60 минут, и сравнивали полученные результаты. При этом установили, что лучшие результаты наблюдаются в насыщенной камере, а время насыщения не имеет значения, в связи с чем в дальнейшем использован показатель насыщения камеры в течение 30 минут.

Таким образом, полученные результаты позволили разработать методику идентификации флавоноидов в траве латука компасного.

Методика идентификации. Около 1,0 г измельченного до размера частиц 1 мм сырья помещают в колбу со шлифом, прибавляют 10 мл спирта этилового 96%, соединяют колбу с обратным холодильником и нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 минут. Колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры и полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (исследуемое извлечение).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флюоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10x15 см наносят 10 мкл исследуемого извлечения в виде полосы 10 мм x 2 мм и рядом – 10 мкл раствора стандартного образца лютеолин-7-глюкозида (цинарозида). Пластику с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру со смесью растворителей: бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2), насыщенную в течение 30 минут, и хроматографируют восходящим способом. После прохождения растворителей 80-90% длины пластинки, ее вынимают из камеры, высушивают в вытяжном шкафу и просматривают в УФ-свете, отмечая зоны адсорбции коричневого и темно-желтого цвета.

На хроматограмме исследуемого извлечения должна быть видна зона адсорбции коричневого цвета на уровне лютеолин-7-глюкозида.

Далее хроматографическую пластинку обрабатывают алюминия хлорида раствором спиртовым 5%, нагревают при 100-105°C в сушильном шкафу в течение 2-3 минут и просматривают в дневном и УФ-свете.

На хроматограмме исследуемого извлечения должна быть видна зона желтого цвета, а в УФ-свете также зона с флуоресценцией желтого цвета.

При разработке методики количественного определения флавоноидов на первом этапе был установлен максимум поглощения водно-спиртового извлечения из травы латука с алюминия хлоридом (экстрагент 70% спирт этиловый), который находится при длине волны 395 нм и в сравнении со стандартными веществами флавоноидов совпадает с максимумом поглощения цинарозида с алюминия хлоридом, из чего можно сделать заключение, что длина волн 395 нм может быть использована для спектрофотометрического определения флавоноидов в траве латука компасного в пересчете на цинарозид, что и было сделано в дальнейшем. Расчет содержания флавоноидов вели с использованием удельного показателя поглощения цинарозида с алюминия хлоридом, который равен 345.

Следующим этапом разработки спектрофотометрической методики было изучение количественной экстракции флавоноидов для определения оптимальных условий их экстрагирования. При этом были изучены: дисперсность сырья, природа экстрагента, время экстрагирования. Для чего высушенную траву латука компасного при влажности 13% измельчали, просеивали через сито с размером отверстий 1 мм, 2 мм, 3 мм. В результате отметили, что наибольший выход флавоноидов у травы латука компасного ($1,22 \pm 0,05\%$) достигается при степени измельчения 1 мм (таблица 1).

При изучении влияния экстрагента (вода, спирт этиловый различных концентраций) на полноту извлечения флавоноидов установлено, что при увеличении концентрации спирта этилового экстрагирующая способность флавоноидов при использовании в качестве экстрагента 70% спирта этилового составила $1,22 \pm 0,06\%$. Однако применение спирта этилового 96% в качестве экстрагента не обеспечивало хорошей набухаемости сырья, уменьшало проникновение его внутрь клеток сырья, а также уменьшало десорбцию экстрагируемых веществ, в связи с чем содержание флавоноидов при этом составило только $0,66 \pm 0,03\%$. Таким образом, в качестве экстрагента флавоноидов нами предложен спирт этиловый 70%. Для установления времени экстрагирования использовали экстракцию до наступления равновесия в течение 30, 45, 60 минут. Результат проводимого эксперимента позволил установить, что в системе «сырье – спирт этиловый 70%» динамическое равновесие) наступает уже при экстрагировании в течение 30 минут ($1,20 \pm 0,05\%$) (таблица 2).

Таблица 1
Table 1Условия экстракции флавоноидов из травы латука компасного
Conditions for the extraction of flavonoids from the herb of prickly lettuce

Параметры экстрагирования Extraction parameters	Сумма флавоноидов в пересчете на абсолютно сухое сырье и цинарозид, % The amount of flavonoids in terms of absolutely dry raw materials and cynaroside, %
Измельченность сырья, мм: The grinding degree of raw materials, mm:	
1	1.22±0.05
2	1.10±0.05
3	1.06±0.04
Используемый экстрагент: Extractant used:	
вода очищенная purified water	0.80±0.03
30% спирт этиловый 30% ethyl alcohol	0.92±0.04
50% спирт этиловый 50% ethyl alcohol	0.85±0.04
70% спирт этиловый 70% ethyl alcohol	1.22±0.06
96% спирт этиловый 96% ethyl alcohol	0.66±0.03
Время экстрагирования, мин (соотношение: сырье – экстрагент – (1:100), экстрагент – спирт этиловый (70%)): Extraction time, min (ratio: raw material – extractant – (1:100), extractant – ethyl alcohol (70%)):	
30	1.20±0.05
45	1.22±0.06
60	1.21±0.05

Таблица 2
Table 2Условия спектрофотометрирования
комплексов флавоноидов из травы латука компасного с алюминия хлоридом
Conditions for spectrophotometry of flavonoids complexes from the herb of prickly lettuce with aluminum chloride

Концентрация и объем алюминия хлорида для реакции комплексообразования Concentration and volume of aluminum chloride for reaction of complexation	Сумма флавоноидов в пересчете на абсолютно сухое сырье и цинарозид, % Amount of flavonoids in terms of absolutely dry raw materials and cynaroside, %
Концентрация алюминия хлорида раствора, %: Concentration of aluminum chloride solution, %:	
1	0.97±0.04
2	0.97±0.04
3	1.00±0.04
4	1.02±0.04
5	1.22±0.06
Объем раствора алюминия хлорида 5%, мл: Volume of aluminum chloride solution 5%, ml:	
1	1.00±0.04
2	0.93±0.04
3	1.22±0.05
4	1.21±0.05

Таблица 3
Table 3

Метрологическая характеристика
методики спектрофотометрического определения флавоноидов в траве латука компасного
Metrological characteristic of spectrophotometric determination of flavonoids in the herb of prickly lettuce

N	f	$\bar{X}$	S^2	S	P, %	X	ϵ , %
6	5	1.04	0.00044	0.02098	95	0.05	4.80
6	5	1.58	0.00065	0.0255	95	0.07	4.43

Примечание: N – объем выборки; f – число степеней свободы; $\bar{X}$ – среднее арифметическое; S^2 – дисперсия; S – стандартное отклонение; P, % – доверительная вероятность; X – вычисленные значения; ϵ , % – относительная ошибка.

Note: N – sample size; f – number of degrees of freedom; $\bar{X}$ – arithmetic mean; S^2 – dispersion; S – standard deviation; P, % – confidence probability; X – calculated values of variables; ϵ , % – relative error.

Дальнейшее нагревание не приводит к изменению выхода флавоноидов, но зато в извлечение будут больше экстрагироваться балластные вещества. В связи с чем нами установлено время экстракции 30 минут.

На следующем этапе нами были изучены условия спектрофотометрирования получаемых комплексов с алюминия хлоридом (таблица 3).

Изучения условий спектрофотометрирования показало, что оптимальной концентрацией алюминия хлорида является 5% раствор в объеме 3 мл.

Результаты проведенных экспериментов позволили разработать методику спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в траве латука компасного:

Около 1,0 г (точная навеска) измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с размером отверстий 1 мм, помещают в коническую колбу со шлифом объемом 250 мл, приливают 100 мл спирта этилового 70% и взвешивают на весах с погрешностью $\pm 0,01$. Колбу соединяют с обратным холодильником и нагревают на водяной бане в течение 30 минут при периодическом встряхивании для смывания частиц сырья со стенок. Далее колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, взвешивают и, если возникает необходимость, доводят спиртом этиловым 70% до первоначальной массы. Полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр, смоченный спиртом этиловым 70%, при этом отбрасывают первые 10 мл фильтрата (раствор А).

Исследуемое извлечение (раствор А) в объеме 3 мл помещают в мерную колбу объемом 25 мл, прибавляют 3 мл алюминия хлорида 5% раствора в спирте этиловом 70% и через 10 минут 1 мл кислоты уксусной раствора 3%. Объем раствора доводят спиртом этиловым 70% до метки, перемешивают и оставляют на 30 минут (раствор Б).

Оптическую плотность исследуемого раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 395 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 3 мл исследуемого извлечения (раствор А), 1 мл кислоты уксусной раствора 3% и доведенный спиртом этиловым 70% до 25 мл в мерной колбе.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид (цинарозид) и абсолютно сухое сырье в процентах (х) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{A^{1\%}_{1\text{см}} \cdot a \cdot 3 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность исследуемого извлечения (раствора Б);

$A^{1\%}_{1\text{см}}$ – удельный показатель поглощения лютеолин-7-глюкозида (цинарозида) с алюминия хлоридом в спирте этиловом 70% при длине волны 395 нм, равный 345 нм;

a – масса навески сырья, г;

W – влажность сырья, %.

По разработанной методике определено содержание флавоноидов в траве латука компасного.

Содержание флавоноидов в траве латука компасного колебалось от $1,04\% \pm 0,05\%$ до $1,58 \pm 0,07\%$, ошибка единичного определения с вероятностью 95% не превышает 4,80%.

Таким образом, впервые разработана методика идентификации флавоноидов в траве латука компасного методом тонкослойной хроматографии, в качестве стандартного вещества выбран лютеолин-7-глюкозид (цинарозид).

Разработана методика спектрофотометрического определения флавоноидов в траве латука компасного в пересчете на цинарозид. Установлены оптимальные условия экстракции флавоноидов: размер частиц сырья – 1 мм, время из-

влечения – 45 минут, экстрагент – 70% спирт этиловый.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Т. 4. Москва: Федеральная электронная медицинская библиотека, 2018. 1833 с. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition. Vol. 4. Moscow: Federal electronic medical library, 2018. 1833 p.] URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Т. 2. Москва: Федеральная электронная медицинская библиотека, 2015. 1003 с. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XII edition. Vol. 4. Moscow: Federal electronic medical library, 2015. 1003 p.] URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea13.php>
3. Губанов И.А., Киселева К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н. *Иллюстрированный определитель растений Средней России*. Том. 3. Покрывосеменные (двудольные: раздельнолепестные). Москва: Товарищество научных изданий КМК, Институт технологических исследований, 2004. 520 с. [Gubanov I.A., Kiseleva K.V., Novikov V.S., Tikhomirov V.N. *Illustrated determinant of plants in Central Russia*. Vol. 3. Angiosperms (dicotyledons: eleuthero-petalous). Moscow: Association of scientific publications KMK, Institute of technological research, 2004. 520 p. (in Russ.)]
4. Руководство ИСН «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» Q2(R1). *Фармация*. 2008; 4:3-10. [ICH manual "Validation of analytical techniques. Content and methodology" Q2 (R1). *Farmatsiya*. 2008; 4:3-10 (in Russ.)]
5. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 5. Семейство Asteraceae (Compositae). Часть 2. Роды *Echinops-Youngia*. под ред. А.Л. Буданцев. Санкт-Петербург, Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2013. 312 с. [Plant resources of Russia: wild flowering plants, their component composition and biological activity. Vol. 5. Family Asteraceae (Compositae). Part 2. Genera *Echinops-Youngia*. A. L. Budantsev, editor. St. Petersburg, Moscow: Association of scientific publications KMK, 2013. 312 p. (in Russ.)]
6. Саканян Е.И., Бунатян Н.Д., Сакаева И.В., Лякина М.Н., Шемерянкина Т.Б., Постоюк Н.А., Рукавицына Н.П. Современные подходы к структуре построения фармакопейных статей на лекарственное растительное сырье. *Фармация*. 2015; 4:9-11 [Sakanyan E.I., Bunatyan N.D., Sakayeva I.V., Lyakina M.N., Shemeryankina T.B., Postoyuk N.A., Rukavitsyna N.P. Current approaches to the pattern of creation of pharmacopoeial articles on raw medicinal plant materials. *Farmatsiya*. 2015; 4:9-11 (in Russ.)]
7. Флора СССР. Т. XXIX. Москва, Ленинград: Академия Наук СССР, 1964. 414 с. [Flora of the USSR. T. XXIX. Moscow, Leningrad: USSR Academy of Sciences, 1964. 414 p. (in Russ.)]
8. Ahmad F., Khan R.A. Study of analgetic and inflammatory activity from plant extract of *Lactuca scariola* and *Artemisia absinthium*. *Journal of Islamic Academy of Sciences*. 1992; 5:111-114.
9. Elsharkawy E., Alshathly M. Anticancer activity of *Lactuca serriola* growing under dry desert condition of Northern Region of Saudi Arabia. *Journal of Natural Science Research*. 2013; 3(2):5-16.
10. Janbaz K.H., Latif M.F., Sagib F., Imran I., Zia-Ul-Haq M., De Feo V. Pharmacological effects of *Lactuca serriola* L. in experimental model of gastrointestinal, respiratory and vascular ailments. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013; 2013:304394. DOI: 10.1155/2013/304394.
11. Kim D.K. Antioxidative components from the aerial parts of *Lactuca scariola* L. *Arch Pharm Res*. 2001; 24(5):427-430.
12. Marco J.A., Sanz J.F., Albiach R.A. sesquiterpene ester from *Lactuca serriola*. *Phytochemistry*. 1992; 31(7):2539-2540.
13. Seaman F.C. Sesquiterpene lactones as taxonomic characters in the Asteraceae. *The botanical review*. 1982; 48(2): 491-492.
14. The plant list: [Электронный ресурс]. URL: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/gcc-114649>
15. Urmila G.H., Rao B.G., Satyanarayana T. Physicochemical and preliminary phytochemical screening for medicinal plants. *International journal of pharmaceutical and chemical sciences*. 2013; 2(4):1738-1742.

Поступила в редакцию 24.04.2019

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Бубенчиков Р.А., Кораблева Т.В. Разработка методик идентификации и количественного определения флавоноидов в траве латука компасного (*Lactuca Serriola* L.). *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2019;(2):87-94. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/10.

DEVELOPING THE METHODS OF IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN THE HERB OF PRICKLY LETTUCE (*LACTUCA SERRIOLA* L.)

© *Bubenchikov R.A., Korableva T.V.*

Kursk State Medical University (KSMU)

3, K. Marx St., Kursk, Kursk region, 305041, Russian Federation

The article is devoted to standardization of raw materials of prickly lettuce or compass plant of *Asteraceae* family. Prickly lettuce (*Lactuca serriola* L.) is an annual or biennial herbaceous plant, and is widely spread in Central Black Earth region.

Objective. The aim of the work was to develop the methods of identification and quantitative determination of flavonoids in the herb of prickly lettuce.

Materials and methods. The investigation object was the herb of prickly lettuce stored in its blooming period in 2017-2018. The quality identification of flavonoids is based on thin-layer chromatography; the quantitative determination is based on spectrophotometric method.

Results. When conducting quality identification the following conditions were established: Sorbfil plates on an aluminum substrate, the volume of application of the studied extraction — 10 µl; mobile phase: n. butanol-acetic acid-water (4:1:2), the standard substance is luteolin-7-glucoside (cynaroside); detection: treatment with 5% solution of aluminum chloride, viewing in UV light before and after treatment with aluminum chloride. Validation of the method was carried out according to the following parameters: specificity, robustness, reproducibility. For the quantitative determination of flavonoids, a spectrophotometric method of determination in terms of cynaroside, based on the reaction of complexation of flavonoids with aluminum chloride, has been developed. The optimal conditions for extracting were determined: the degree of grinding of raw material — 1 mm, the extractant — 70% ethyl alcohol, the extraction time — 30 minutes.

Conclusion. The procedure has been developed for the quality identification and quantitative determination of flavonoids in the herb of prickly lettuce. The content of flavonoids ranged from $1.04 \pm 0.05\%$ to $1.58 \pm 0.07\%$. The error of a single determination with a probability of 95% does not exceed 4.80%.

Key words: prickly lettuce, compass plant, *Asteraceae*, flavonoids, standardization, chromatography, spectrophotometry.

Bubenchikov Roman A. – Doctor of Pharmacy, Associate Professor of Department of Pharmacognosy and Botany, KSMU, Kursk, Russian Federation. E-mail: bubenhikova.ksmu@yandex.ru

Korableva Tatyana V. – Post-Graduate Student, KSMU, Kursk, Russian Federation.

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 24.04.2019

Accepted 20.06.2019

For citation: Bubenchikov R.A., Korableva T.V. Developing the methods of identification and quantitative determination of flavonoids in the herb of prickly lettuce (*Lactuca serriola* L.). *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019; (2):87-94. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/10.