

АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА ОБЫКНОВЕННОГО (*ACHILLEA MILLEFOLIUM* L.)

А.И. Васькова, В.А. Куркин

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (Самара, Россия)

Для цитирования: Васькова А.И., Куркин В.А. **Актualityные аспекты качественного и количественного анализа тысячелистника обыкновенного (*Achillea Millefolium* L.).** *Аспирантский вестник Поволжья*. 2022;22(4):40-46. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.40-46

■ Сведения об авторах

Васькова А.И. – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ORCID: 0000-0002-6517-4816

E-mail: a.i.vaskova@samsmu.ru

Куркин В.А. – д-р фарм. наук, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ORCID: 0000-0002-7513-9352

E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Рукопись получена: 28.07.2022

Рецензия получена: 21.08.2022

Решение о публикации: 14.09.2022

■ Аннотация

Цель – разработать методику качественного и количественного анализа флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного.

Материал и методы. Материалом исследования служила трава тысячелистника обыкновенного, заготовленная в 2020 и 2021 году, а также промышленный образец сырья АО «Красногорсклексредства». Кроме того, использовались стандартные образцы (СО) флавоноидов, полученные авторами в ходе предыдущих исследований ЛРС, содержащего флавоноиды, охарактеризованные с использованием ЯМР, УФ и масс-спектро스코пии: рутин, кверцетин, кемпферол, цинарозид, лютеолин. Определение подлинности осуществляли методом тонкослойной хроматографии (качественный анализ). В качестве метода количественного определения суммы флавоноидов использована дифференциальная спектрофотометрия, проведенная в соответствии с ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Спектральные характеристики водно-спиртовых извлечений оценивали на спектрофотометре Specord 40 (Analytik Jena AG, Германия) в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

Результаты. Исходя из результатов определения подлинности, выявлены три зоны адсорбции, имеющие яркое желтое свечение в УФ-свете при длине волны 365 нм (реагент – $AlCl_3$), одна из которых на уровне зоны адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца цинарозида с величиной $R_f \approx 0,7$. Доминирующая зона адсорбции с величиной R_f 1,3 относительно СО цинарозида, предположительно, отнесена нами к космосину, а зона адсорбции с величиной $R_f \approx 0,8$ обнаружена на уровне СО кемпферола. Полученные данные подтверждают присутствие цинарозида в траве тысячелистника обыкновенного, а также возможность проведения качественного и количественного анализа травы данного сырья с использованием цинарозида в качестве стандартного образца. Также разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием государственного стандартного образца цинарозида при аналитической длине волны 400 нм. Содержание суммы флавоноидов для травы тысячелистника обыкновенного варьирует от $0,41 \pm 0,02$ % до $0,74 \pm 0,03$ % (в пересчете на цинарозид). Ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет 6,70%.

Ключевые слова: тысячелистник обыкновенный, *Achillea millefolium* L., трава, стандартизация, спектрофотометрия, флавоноиды, цинарозид.

Конфликт интересов: не заявлен.

CURRENT ASPECTS OF QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF COMMON YARROW (*ACHILLEA MILLEFOLIUM* L.)

Anastasiya I. Vaskova, Vladimir A. Kurkin

Samara State Medical University (Samara, Russia)

Citation: Vaskova AI, Kurkin VA. **Current aspects of qualitative and quantitative analysis of common yarrow (*Achillea Millefolium* L.).** *Aspirantskiy vestnik Povolzhia*. 2022;22(4):40-46. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.40-46

■ Information about authors

Anastasiya I. Vaskova – a postgraduate student of the Department of Pharmacognosy with botany and the basics of phytotherapy.

ORCID: 0000-0002-6517-4816 E-mail: a.i.vaskova@samsmu.ru

Vladimir A. Kurkin – PhD, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with botany and the basics of phytotherapy.

ORCID: 0000-0002-7513-9352 E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Received: 28.07.2022

Revision Received: 21.08.2022

Accepted: 14.09.2022

■ Abstract

Aim – to develop a methodology for qualitative and quantitative analysis of flavonoids in the herb of *Achillea millefolium* L.

Material and methods. The material of the study was the yarrow herb harvested in 2020 and 2021, and an industrial sample from JSC "Krasnogorskleksredstva". Additionally, we used the reference samples of flavonoids: rutin, quercetin, kaempferol, cynaroside, and luteolin, received previously during our studies of the raw materials containing the flavonoids and described using the NMR, UV and mass spectroscopy. The authenticity was determined by the thin layer chromatography (qualitative analysis). For the quantitative analysis of the total flavonoids, we used the differential spectrophotometry, conducted in accordance with Pharmacopoeial monograph 1.2.1.1.0003.15 "Spectrophotometry in ultraviolet and visible spectra". The spectral characteristics of

the water-ethanolic extractions were marked using the spectrophotometer "Specord 40" (Analytik Jena AG, Germany), in cuvettes with layer thickness of 10 mm.

Results. Based on the results of the authenticity determination, we revealed three adsorption zones with bright yellow glow in UV light at a wavelength of 365 nm (reagent – AlCl_3), one of which was at the level of the adsorption zone in the chromatogram of the solution of standard sample of cynaroside with a value of $R_f \approx 0.7$. The dominant adsorption zone with a value of R_s 1.3 in respect to the reference sample of cynaroside was presumably attributed to cosmosiin, while the adsorption zone with a value of $R_f \approx 0.8$ was detected at the level of standard sample of kaempferol. The obtained data confirmed the presence of cynaroside in the herb of common yarrow, and also the possibility to conduct the qualitative and quantitative analysis of the given raw material with the use of cynaroside as a reference sample. We developed the method of quantitative determination of the total flavonoids in yarrow herb using a reference sample of cynaroside and differential spectrophotometry at an analytical wave length of 400 nm. The content of the total flavonoids for the common yarrow herb varied from $0.41 \pm 0.02\%$ to $0.74 \pm 0.03\%$ (equivalent to cynaroside). The error of single determination with 95% confidence interval was 6.70%.

■ **Keywords:** common yarrow; *Achillea millefolium* L.; herb; standardization; spectrophotometry; flavonoids; cynaroside.

■ **Conflict of interest:** nothing to disclose.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Растения рода Тысячелистник (*Achillea*) распространены в лесной, лесостепной, степной зонах на суходольных лугах, луговых склонах гор, по залежам, окраинам полей в европейской части России, во многих районах Западной и Восточной Сибири, Дальнего Востока, Кавказа и Средней Азии [1, 2]. В настоящее время среди обширного перечня видов рода Тысячелистник (*Achillea*) в Государственную фармакопею Российской Федерации XIV издания включен только один – тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.) [3].

Трава тысячелистника обыкновенного, используемая в качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС), является источником ряда биологически активных веществ (БАВ): эфирное масло, алкалоид ахиллеин, флавоноиды, кумарины, горькие и дубильные вещества, смолы, органические кислоты, аскорбиновая кислота, филлохинон, каротин, холин, минеральные вещества [4–7]. Препараты тысячелистника обладают желчегонными, гепатопротекторными, кровоостанавливающими, противовоспалительными свойствами [6, 8, 9, 10]. Также некоторыми учеными была выявлена антиоксидантная активность [11–14].

В настоящее время аспекты качественного и количественного анализа лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов становятся все более актуальными. Согласно методике ФС 2.5.0101.18 Государственной фармакопеи XIV издания «Тысячелистника обыкновенного трава», определение основных групп биологически активных веществ (БАВ) методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) предполагает использование стандартного образца судана III (рисунок 1). При этом ТСХ-анализ проводится в системе растворителей толуол – этилацетат (95:5); детекцию осуществляют анисового альдегида раствором спиртовым сернокислым [3]. Судан III не содержится в сырье данного растения, поэтому актуальным является разработка методики определения одной из основных групп биологически активных веществ – флавоноидов, принимая во внимание то обстоятельство, что одним их характерных компонентов травы тысячелистника обыкновенного является цинарозид (рисунок 1).

Также в методике ФС 2.5.0101.18 «Тысячелистника обыкновенного трава» предусмотрена стадия сочетания экстракции и кислотного гидролиза флавоноидных гликозидов спиртом этиловым 96%, содержащим 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, с последующим определением суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин. С учетом того что содержащиеся в траве тысячелистника обыкновенного флавоноидные гликозиды, в том числе 7-О-гликозиды лютеолина (цинарозид) и апигенина (космосин), трудно поддаются кислотному гидролизу [6, 15], существует необходимость совершенствования методики количественного определения суммы флавоноидов в сырье данного растения.

ЦЕЛЬ

Разработка методики качественного и количественного анализа флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного.

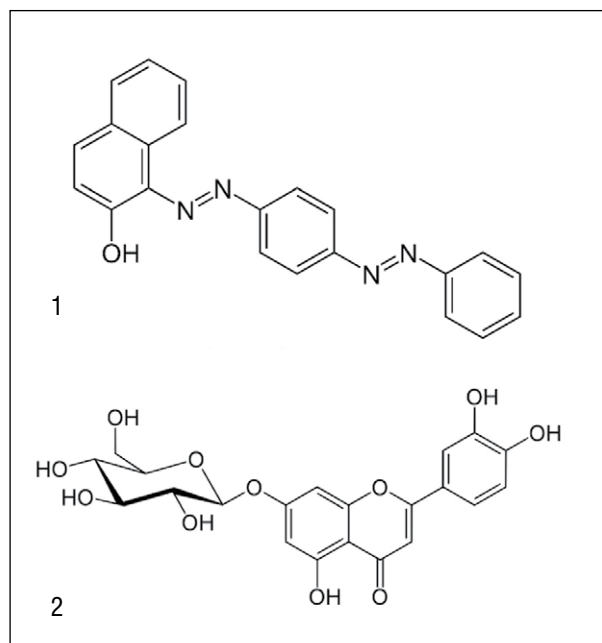


Рисунок 1. Структурные формулы судана III (1) и цинарозида (2).

Figure 1. Structural formulas of Sudan III (1) and cynaroside (2).

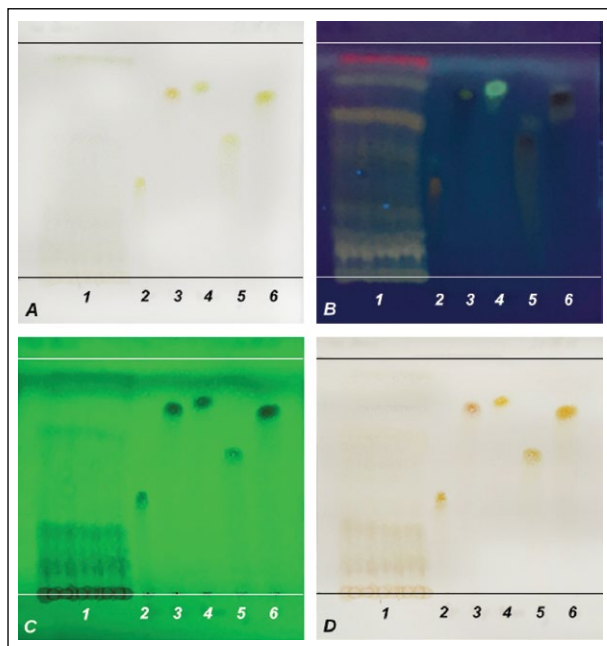


Рисунок 2. ТСХ-хроматограмма водно-спиртового извлечения травы тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.) в системе растворителей хлороформ – этанол – вода (25:18:2): А – детекция в видимом свете; В – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм; С – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм после обработки спиртовым раствором хлорида алюминия (AlCl_3); D – детекция после обработки раствором диазобензолсульфокислоты (ДСК).

Обозначения: 1 – 70% водно-спиртовое извлечение травы тысячелистника обыкновенного; 2 – СО рутина; 3 – СО кверцетина; 4 – СО кемпферола; 5 – СО цинарозида; 6 – СО лутеолина.

Figure 2. TLC-chromatogram of water-ethanolic extraction from *Achillea millefolium* herb in a solvent system chloroform – ethanol – water (25: 18: 2): A – detection in visible light; B – detection in UV light at a wavelength of 365 nm; C – detection in UV light at a wavelength of 365 nm after processing with an ethanolic solution of aluminum chloride (AlCl_3); D – detection after processing with solution of diazobenzenesulfonic acid (DSC).

Designations: 1 – 70% water-ethanolic extraction from *Achillea millefolium* herb; 2 – rutin; 3 – quercetin; 4 – kaempferol; 5 – cynaroside; 6 – luteolin.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служила трава тысячелистника обыкновенного, заготовленная в 2020 и 2021 году, а также промышленный образец сырья АО «Красногорсклексредства». Кроме того, использовались стандартные образцы (СО) флавоноидов, полученные авторами в ходе предыдущих исследований ЛРС, содержащего флавоноиды, охарактеризованные с использованием ЯМР, УФ и масс-спектро스코пии: рутин, кверцетин, кемпферол, цинарозид, лутеолин.

Тонкослойную хроматографию осуществляли на хроматографических пластинах «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ». Капиллярами «LactatProfi3000» на линию старта наносили 0,02 мл водно-спиртового извлечения и параллельно 0,01 мл 0,02% растворов СО флавоноидов: рутин, кверцетин, кемпферол, цинарозид,

лутеолин. Определение проводили в системе хлороформ – этанол – вода (25:18:2). Хроматографическую пластинку помещали в камеру, которую предварительно насыщали в течение 60 минут смесью растворителей и хроматографировали восходящим способом.

Полученные хроматограммы просматривали при дневном свете, в УФ-свете при $\lambda=365$ нм и при $\lambda=254$ нм с помощью ультрафиолетового облучателя УФО-254/365 («Петролазер», Россия). Детекцию проводили щелочным раствором диазобензолсульфокислоты (ДСК) и 3% спиртовым раствором алюминия хлорида (AlCl_3).

В качестве метода количественного определения суммы флавоноидов использована дифференциальная спектрофотометрия, проведенная в соответствии с ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Спектральные характеристики водно-спиртовых извлечений определяли на спектрофотометре Specord 40 (Analytik Jena AG, Германия) в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исходя из результатов проведенных хроматографических исследований, выявлен ряд особенностей хроматографических профилей изучаемых объектов (**рисунок 2А**). При детектировании хроматографических пластинок с 70% водно-спиртовым извлечением травы тысячелистника обыкновенного выявлено наличие фенольных соединений (фенилпропаноиды, флавоноиды) (**рисунок 2**).

На хроматограмме извлечения обнаружены 3 зоны адсорбции, имеющие желтое окрашивание в видимом свете (**рисунок 2А**), яркое желтое свечение в УФ-свете при длине волны 365 нм (реагент – AlCl_3) и оранжево-желтое окрашивание при дальнейшей обработке щелочным раствором ДСК. Одна из зон адсорбции расположена на уровне зоны адсорбции на хроматограмме раствора СО цинарозида с величиной $R_f \approx 0,7$ (**рисунок 2Б**), из чего можно заключить, что данное вещество является цинарозидом. Вторая доминирующая зона адсорбции с величиной R_s 1,3 относительно СО цинарозида предположительно отнесена нами к космосину. Кроме того, обнаружены другие флавоноидные соединения негликозидной структуры. Так, выявлена зона адсорбции желтого цвета с $R_f \approx 0,8$, что совпадает с величиной R_f СО кемпферола.

Полученные данные позволяют предположить присутствие цинарозида в траве тысячелистника обыкновенного, а также возможность проведения качественного и количественного анализа травы данного сырья с использованием цинарозида в качестве стандартного образца.

В целях разработки методики количественного определения суммы флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного были изучены УФ-спектры растворов водно-спиртовых извлечений из данного сырья (**рисунки 3, 4**). По данным эксперимента

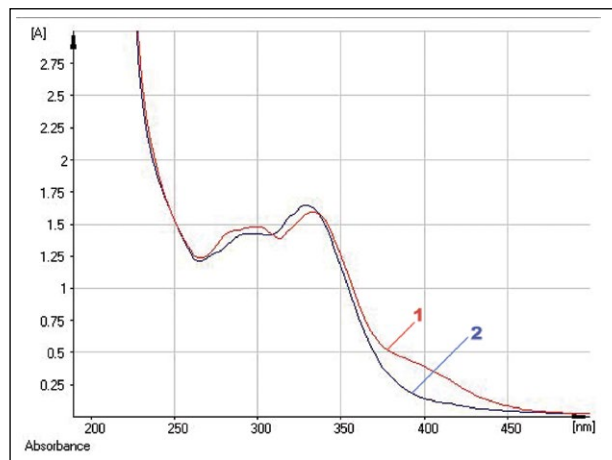


Рисунок 3. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из травы тысячелистника обыкновенного. Обозначения: 1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида.

Figure 3. Electronic spectra of ethanolic solution of extraction from *Achillea millefolium* herb. Designations: 1 – solution of extraction; 2 – solution of extraction with the addition of aluminum chloride.

определено, что в УФ-спектре водно-спиртового извлечения тысячелистника обыкновенного наблюдается батохромный сдвиг длинноволновой полосы флавоноидов (**рисунок 3**), как и в случае цинарозида (**рисунок 5**). При изучении УФ-спектров ГСО цинарозида было выявлено, что раствор данного стандарта в присутствии алюминия хлорида имеет максимум поглощения при длине волны 400 нм (**рисунок 3**). В УФ-спектре водно-спиртового извлечения из травы тысячелистника обыкновенного в дифференциальном варианте выявлен максимум поглощения при длине волны 400 нм (**рисунок 4**), который совпадает с максимумом поглощения спиртового раствора

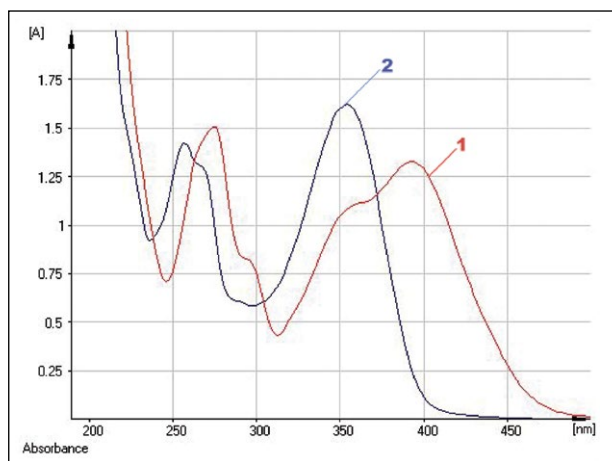


Рисунок 5. Электронные спектры спиртовых растворов цинарозида. Обозначения: 1 – исходный раствор; 2 – раствор с добавлением алюминия хлорида.

Figure 5. Electronic spectra of ethanolic solutions of cynaroside. Designations: 1 – initial solution; 2 – solution with the addition of aluminum chloride.

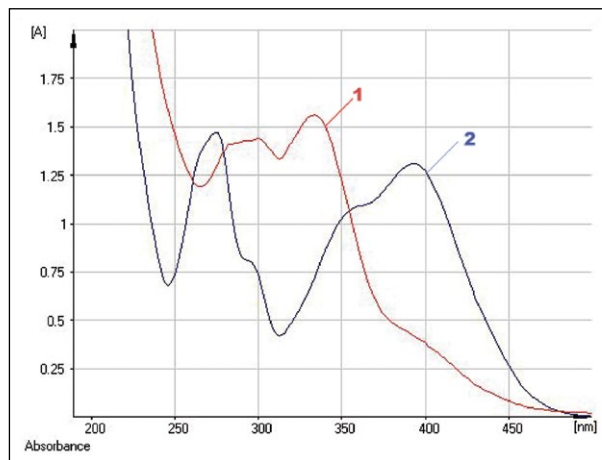


Рисунок 4. Сравнение электронных спектров растворов водно-спиртового извлечения из травы тысячелистника обыкновенного и СО цинарозида. Обозначения: 1 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида; 2 – раствор цинарозида с добавлением алюминия хлорида.

Figure 4. Comparison of electronic spectra of ethanolic solution of extraction from *Achillea millefolium* herb and reference substance of cynaroside. Designations: 1 – solution of extraction with the addition of aluminum chloride; 2 – solution of cynaroside with the addition of aluminum chloride.

цинарозида (**рисунок 5**). Поскольку флавоноидные гликозиды имеют более полярную природу по сравнению с их агликонами, целесообразным было обоснование оптимального экстрагента (**таблица 1**).

Исходя из результатов эксперимента, нами определены оптимальные условия экстракции флавоноидов в тысячелистнике обыкновенном траве: экстрагент 50% этиловый спирт; соотношение «сырье – экстрагент» – 1:30; время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане в течение 45 мин, степень измельчения сырья – 2 мм (**таблица 1**). Использование степени измельчения сырья 2 мм обосновано тем, что данная величина выбрана исходя

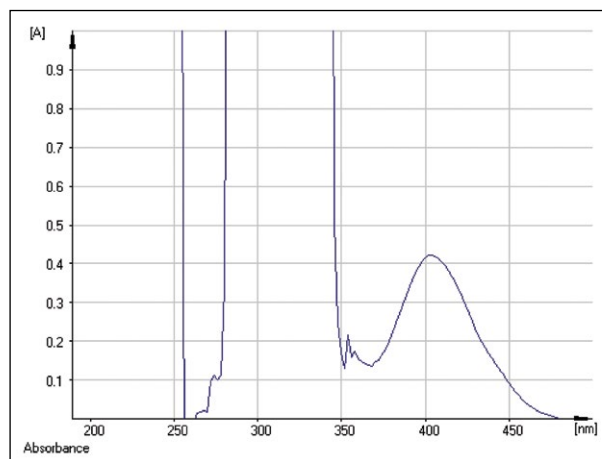


Рисунок 6. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из травы тысячелистника обыкновенного (дифференциальный вариант).

Figure 6. Electronic spectra of ethanolic solution of extraction from *Achillea millefolium* herb (differential option).

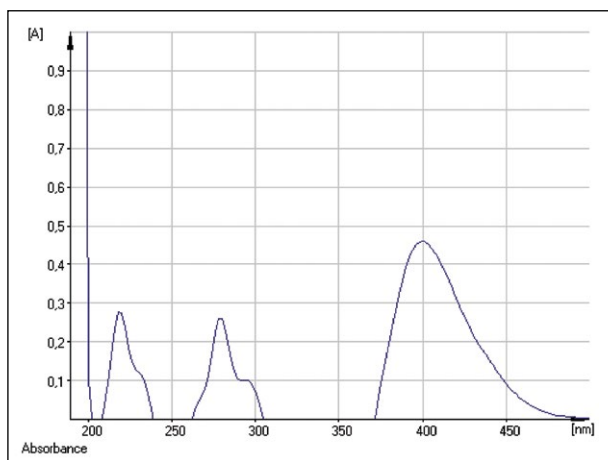


Рисунок 7. Электронный спектр спиртового раствора цинарозида (дифференциальный вариант).

Figure 7. Electronic spectra of solutions of ethanolic extraction of cynaroside (differential option).

из ФС 2.5.0101.18 «Тысячелистника обыкновенного трава» ГФ РФ XIV издания. Более высокое содержание суммы флавоноидов в случае использования степени измельчения 1 мм объясняется тем, что сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм проходит фракция сырья с преобладанием цветков и листьев (по сравнению со стеблями).

Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл 50% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до $\pm 0,01$ г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 45 мин. Затем ее охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (красная полоса). Испытуемый раствор готовят следующим образом: 2 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (испытуемый раствор А). Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре

Таблица 2 / Table 2

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в тысячелистнике обыкновенном траве

Metrological characteristics of the quantitation of the total flavonoids in the *Achillea millefolium* herb

n	f	\bar{X}	S	$S_{\bar{X}}$	P(%)	T(P,t)	ΔX	$\Delta \bar{X}$	E, %
11	10	0,4100	0,0121	0,00015	95,00%	2,2300	$\pm 0,0270$	0,0080	$\pm 6,7000$

Таблица 1 / Table 1

Зависимость полноты извлечения суммы флавоноидов из травы тысячелистника обыкновенного

Dependence of recovery rate of the total flavonoids from the *Achillea millefolium* herb

№ п/п	Концентрация экстрагента – этилового спирта, %	Соотношение сырье : экстрагент	Время экстракции, мин	Степень измельчения сырья, мм	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид и абсолютно сухое сырье (в %)
1	40	1:30	45	2	0,22 \pm 0,01
2	50				0,54 \pm 0,02
3	60				0,45 \pm 0,02
4	70				0,44 \pm 0,02
5	80				0,25 \pm 0,01
6	96				0,16 \pm 0,01
7	50	1:30	30	2	0,42 \pm 0,02
8			45		0,54 \pm 0,02
9			60		0,53 \pm 0,03
10			90		0,51 \pm 0,02
11			120		0,37 \pm 0,02
12	50	1:20	45	2	0,34 \pm 0,02
13		1:30			0,54 \pm 0,02
14		1:50			0,66 \pm 0,03
15	50	1:30	45	1	0,77 \pm 0,03
16				2	0,54 \pm 0,02
17				3	0,49 \pm 0,02

при длине волны 400 нм через 40 мин после приготовления. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 2 мл извлечения (1:30) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора спиртом этиловым 96% до метки (испытуемый раствор Б). Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 400 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, который готовят следующим образом: 2 мл раствора А цинарозида помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (раствор сравнения Б цинарозида).

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

$$x = \frac{D \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 2 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 2 \cdot 25 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора ГСО цинарозида; m – масса сырья, г; m_0 – масса ГСО цинарозида, г; W – потеря в массе при высушивании, в %.

Приготовление растворов

Раствор стандартного образца (СО) цинарозида. Около 0,05 г (точная навеска) цинарозида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл

Таблица 3 / Table 3

Содержание суммы флавоноидов в образцах травы тысячелистника обыкновенного

Concentration of the total flavonoids in the samples of the *Achillea millefolium* herb

№ п/п	Характеристика образца сырья	Содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом сырье (в %) в пересчете на цинарозид
1	Самарская область (июль 2020 г.)	0,54±0,02
2	Оренбургская область (июль 2021 г.)	0,74±0,03
3	Республика Татарстан (июль 2021 г.)	0,51±0,02
4	АО «Красногорск-лексредства»	0,71±0,03

50% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 50% этиловым спиртом до метки (раствор А цинарозида). 2 мл раствора А цинарозида помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % (испытуемый раствор Б цинарозида).

В случае отсутствия СО цинарозида целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения при 400 нм – 340.

$$x = \frac{D \cdot 30 \cdot 25 \cdot 100}{m \cdot 340 \cdot 2 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 340 – удельный показатель поглощения ($E_{1\%}^{1\text{см}}$) ГСО цинарозида при 400 нм; W – потеря в массе при высушивании, в %.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного представлены в **таблице 2**. Исходя из результатов статистической обработки проведенных опытов, можно сказать о том, что ошибка единичного определения суммы флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 6,70\%$.

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов травы тысячелистника обыкновенного и цинарозида с алюминием хлоридом; выявлен максимум поглощения при длине волны 400 нм (рисунок 4), который совпадает с максимумом поглощения спиртового раствора цинарозида (рисунок 5). Линейность методики определяли для серии растворов водно-спиртового извлечения (разведения 1/25 мл, 2/25 мл, 2/50 мл) (с концентрациями в диапазоне от 0,0020 до 0,0112 мг/мл)

и СО цинарозида (с концентрациями в диапазоне от 0,0022 до 0,0110 мг/мл). Коэффициент корреляции для испытуемого раствора составил 0,9947, для СО цинарозида – 0,9979.

С использованием разработанной методики нами проанализированы образцы травы тысячелистника обыкновенного из разных регионов, а также образец фасованного сырья (**таблица 3**), и при этом определено, что содержание суммы флавоноидов варьирует от 0,41±0,02% до 0,74±0,03%. На основе полученных данных нами рекомендован нижний предел содержания суммы флавоноидов для сырья данного растения не менее 0,4% в соответствии с Государственной фармакопеей РФ XIV издания, однако в пересчете на цинарозид.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности стандартизации травы тысячелистника обыкновенного путем экстракции данного сырья 50% спиртом этиловым (без сопутствующего этой стадии кислотного гидролиза) с последующим определением суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 400 нм в пересчете на цинарозид, причем с сохранением числового показателя – суммы флавоноидов не менее 0,4% в соответствии с ФС 2.5.0101.18 Государственной фармакопеей РФ XIV издания «Тысячелистника обыкновенного трава».

ВЫВОДЫ

1. В ходе проведения ТСХ-анализа обнаружены три зоны адсорбции, имеющие яркое желтое свечение в УФ-свете при длине волны 365 нм (реагент – AlCl_3), одна из которых на уровне зоны адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца цинарозида с величиной $R_f \approx 0,7$. Полученные данные позволяют предположить присутствие цинарозида в траве тысячелистника обыкновенного, а также возможность проведения качественного и количественного анализа травы данного сырья с использованием цинарозида в качестве стандартного образца.

2. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в тысячелистнике обыкновенном траве методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием СО цинарозида при аналитической длине волны 400 нм. Результаты проведенных исследований позволяют рекомендовать для тысячелистника обыкновенного травы нижний предел содержания суммы флавоноидов не менее 0,4% в соответствии с ФС 2.5.0101.18 Государственной фармакопеей РФ XIV издания «Тысячелистника обыкновенного трава», однако в пересчете не на лютеолин, а на цинарозид.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Maevskii PF. *Flora of Middle Part of European Russia*. M., 2014. (In Russ.). [Маевский П.Ф. *Флора средней полосы европейской части России*. М., 2014].
2. Maznev NI. *Encyclopedia of Medicinal Plants*. M., 2004:407-408. (In Russ.). [Мазнев Н.И. *Энциклопедия лекарственных растений*. М., 2004:407-408].
3. Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV-ed. [Electronic resource]. (In Russ.). [Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. [Электронное издание]. URL: <https://femb.ru/record/pharmacopeia14>]
4. Vernikovskaya NA, Temerdashev ZA. Identification and chromatographic determination of phenolic compounds in yarrow. *Analitika i kontrol'*. 2012;2:188-195. (In Russ.). [Верниковская Н.А., Темердашев З.А. Идентификация и хроматографическое определение фенольных соединений в тысячелистнике обыкновенном. *Аналитика и контроль*. 2012;2:188-195].
5. Komarov BA. The elemental composition of yarrow. *Razrabotka i registraciâ lekarstvennyh sredstv*. 2018;3:158-161. (In Russ.). [Комаров Б.А. Элементный состав тысячелистника обыкновенного. 2018;3:158-161].
6. Kurkin VA. *Pharmacognosy*. Samara, 2020. (In Russ.). [Куркин В.А. *Фармакогнозия*. Самара, 2020].
7. Shatalina NV, Pervishina GG, Efremov AA, et al. Content of some biologically active substances in common yarrow herb (*Achillea millefolium*) growing in Krasnoyarsk region. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2002;3:13-16. (In Russ.). [Шаталина Н.В., Первышина Г.Г., Ефремов А.А., и др. Содержание некоторых биологически активных веществ в траве тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*), произрастающего в Красноярском крае. *Химия растительного сырья*. 2002;3:13-16].
8. Aslanova D, Karomatov ID. *Achillea millefolium* in traditional and scientific medicine. *Biologiya i integrativnaya meditsina*. 2018;1(18):167-186. (In Russ.). [Асланова Д., Кароматов И.Д. Тысячелистник обыкновенный в народной и научной фитотерапии. *Биология и интегративная медицина*. 2018;1(18):167-186].
9. Chusovitina KA, Karpuhin MYu. Pharmacological specificities of Yarrow (*Achillea millefolium* L.). *Agrarnoe obrazovanie i nauka*. 2019;4:31. (In Russ.). [Чусовитина К.А., Карпухин М.Ю. Фармакологические особенности тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.). *Аграрное образование и наука*. 2019;4:31].
10. Lakshmi T, Geetha RV, Anitha R, et al. Yarrow (*Achillea millefolium* Linn.) A herbal medicinal plant with broad therapeutic use – A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2011;9:136-141.
11. Vardanyan LR, Atabekyan LV, Hayrapetyan SA, Vardanyan RL. Antioxidant activity of the ethyl acetate extract of different types of the thousand (*Achillea* L.). *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2018;3:61-68. (In Russ.). [Варданян Л.Р., Атабекян Л.В., Айрапетян С.А., Варданян Р.Л. Антиоксидантная активность этилацетатного экстракта разных видов тысячелистника (*Achillea* L.). *Химия растительного сырья*. 2018;3:61-68]. doi: 10.14258/jcprm.2018033697
12. Tarun EI, Kuxta AN, Nebokatkina AA, Kurchenko VP. Antioxidant activity of extracts of milfoil flowers and leaves. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2022;3:57-65. (In Russ.). [Тарун Е.И., Кухта А.Н., Небокаткина А.А., Курченко В.П. Антиоксидантная активность экстрактов цветов и листьев тысячелистника. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2022;3:57-65]. doi: 10.46646/SAKH-2020-2-174-177
13. Ahmadi A, Ezzatpanah H, Asgary S. et al. Phytochemical, Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from Flowers and Leaves of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2017;20:395-409. doi: 10.1080/0972060X.2017.1280419
14. Salehi B, Selamoglu Z, Sevindik M, et al. *Achillea* spp.: A comprehensive review on its ethnobotany, phytochemistry, phytopharmacology and industrial applications. *Cellular and molecular biology*. 2020;66(4):78-103. doi: 10.14715/cmb/2020.66.4.13
15. Kurkina AV. *Flavonoids of pharmacopoeial plants*. Samara, 2012. (In Russ.). [Куркина А.В. *Флавоноиды фармакопейных растений*. Самара, 2012].

■ Автор для переписки

Куркин Владимир Александрович
Адрес: Самарский государственный медицинский университет;
ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.

■ Corresponding Author

Vladimir A. Kurkin
Address: Samara State Medical University,
89 Chapaevskaya st., Samara, Russia, 443099.
E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru