

УДК 615.014:582.736

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2025.4.23 EDN: LWYVIK

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРАВЫ АСТРАГАЛА ЭСПАРЦЕТОВОГО *ASTRAGALUS ONOBRYCHIS* L.© Лабковская М.В.¹, Шмыгарева А.А.¹, Куркин В.А.², Кочукова А.А.¹¹Оренбургский государственный медицинский университет, Россия, 460000, Оренбург, ул. Советская, 6²Самарский государственный медицинский университет, Россия, 443099, Самара, ул. Гагарина, 18*Резюме*

Цель. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве астрагала эспарцетового *Astragalus onobrychis* L.

Методика. Объектами исследования служили образцы травы астрагала эспарцетового (*Astragalus onobrychis* L.) производства ООО «Травы Горного Крыма», Россия, г. Крым, 2024 год; ООО «Русские корни», Россия, Ростовская обл., 2024 год; ООО «Вита», Россия, г. Барнаул, 2024 г. Электронные спектры измерялись на УФ-спектрофотометре UNICO 2800, ультразвуковая ванна Вилитек VBS, водяная баня «ЛАБ-ТБ-6/Ш», испаритель ротационный «ИР-1 ЛТ».

Результаты. Статья отражает предложенную методику количественного определения содержания суммы флавоноидов в сырье астрагала эспарцетового (*Astragalus onobrychis* L.), основанный на экстракции биологически активных веществ методом вакуумного кипения, при температурном режиме 60°C, в течение 10 мин. Этот подход позволяет достичь максимального выхода флавоноидов – до 2,95% в пересчёте на гиперозид. Методика отличается простотой исполнения и минимальными временными затратами, что делает её эффективной для анализа растительного сырья.

Заключение. В ходе разработки методики количественного определения активных компонентов травы астрагала эспарцетового были определены оптимальные условия экстракции сырья, что способствует значительному увеличению выхода флавоноидов при минимальных затратах времени на исследование.

Ключевые слова: астрагал эспарцетовый, *Astragalus onobrychis* L., флавоноиды, гиперозид, стандартизация, спектрофотометрия

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE HERB OF ASTRAGALUS ESPARCET *ASTRAGALUS ONOBRYCHIS* L.Labkovskaya M.V.¹, Shmygareva A.A.¹, Kurkin V.A.², Kochukova A.A.¹¹Orenburg State Medical University, 6, Sovetskaya St., 460000, Orenburg, Russia²Samara State Medical University, 18, Gagarin St., 443099, Samara, Russia*Abstract*

Objective. Development of a technique for the quantitative determination of the amount of flavonoids in the herb of *Astragalus onobrychis* L.

Methods. The objects of the study were samples of the herb *Astragalus esparcet* (*Astragalus onobrychis* L.) produced by LLC Herbs of the Mountain Crimea, Russia, Crimea, 2024; LLC Russian Roots, Russia, Rostov region, 2024. The electronic spectra were measured using a UNICO 2800 UV spectrophotometer, a Vilitek VBS ultrasonic bath, a LAB-TB-6/Sh water bath, and an IR-1 LT rotary evaporator.

Results. The article reflects the proposed method for quantifying the amount of flavonoids in the raw materials of *Astragalus esparcet* (*Astragalus onobrychis* L.), based on the extraction of biologically active substances by vacuum boiling, at a temperature of 60°C, for 10 minutes. This approach makes it possible to achieve the maximum yield of flavonoids – up to 2,95% in terms of hyperoside. The technique is characterized by simplicity of execution and minimal time costs, which makes it effective for the analysis of plant raw materials.

Conclusions. During the development of a method for the quantitative determination of the active components of the herb *astragalus esparcet*, optimal extraction conditions for raw materials were

determined, which contributes to a significant increase in the yield of flavonoids with minimal time spent on research.

Keywords: astragalus esparcet, *Astragalus onobrychis* L., flavonoids, hyperoside, standardization, spectrophotometry

Введение

С каждым годом растет спрос потребителей на лекарственные препараты из растительного сырья. Это связано со стремлением людей к здоровому образу жизни, который включает в себя профилактику тех или иных заболеваний. Лекарственные растительные препараты имеют натуральный состав, а соответственно минимальные побочные эффекты, по этой причине, возможен достаточно продолжительный их прием.

Природные соединения, такие как алкалоиды, карденолиды, флавоноидные гликозиды и ацилкумарины, играют важную роль в современной медицине благодаря своей биологической активности и уникальному сочетанию веществ, которые сложно воспроизвести синтетическим путем. Растительные экстракты содержат широкий спектр биологически активных компонентов, оказывающих комплексное воздействие на организм человека [2]. В связи с этим, растительные лекарственные препараты пользуются спросом, как в качестве самостоятельного средства, так и в комплексе с основной терапией. Зачастую, эти препараты назначают и после основного лечения, в качестве поддерживающей терапии [3].

Для обеспечения качества и эффективности лекарственных препаратов растительного происхождения необходима стандартизация методов количественного определения биологически активных веществ. Современные подходы к количественному определению лекарственного растительного сырья (ЛРС) объединяют в себе различные аналитические методы, каждый из которых имеет свои преимущества и ограничения. Выбор конкретного метода зависит от типа анализируемого сырья, целевых соединений и требований к точности результатов [10]. Постоянное развитие технологий и внедрение новых подходов позволяют улучшать качество контроля ЛРС и повышать эффективность производства лекарственных препаратов. Количественное определение действующих веществ в ЛРС является важным этапом в фармацевтической практике, поскольку от точности этого процесса зависит эффективность и безопасность лекарственных препаратов.

Фармакопейные методики экстракции, такие как мацерация, перколяция, реперколяция широко распространены, но они требуют усовершенствования, для того, чтобы идти в ногу со временем.

Цель исследования – разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве астрагала эспарцетового (*Astragalus onobrychis* L.). Для достижения этой цели предлагается использовать усовершенствованный метод экстрагирования – режим вакуумного кипения, который позволяет увеличить выход действующих веществ и сократить время анализа по сравнению с традиционными фармакопейными методами, такими как мацерация, перколяция и реперколяция.

Методика

Количественное определение действующих веществ водного спиртового извлечения из травы астрагала эспарцетового (*Astragalus onobrychis* L.) выполняли спектрофотометрическим методом, в основе которого лежит реакция комплексообразования с использованием 5% раствора алюминия хлорида (AlCl_3). Появление пика поглощения при длине волны около 399 ± 2 нм свидетельствует о наличии флавоноидных соединений, поскольку такие соединения часто проявляют характерное поглощение в этой области спектра. В частности, гиперозид – один из представителей флавоноидов, который является доминирующим в астрагале эспарцетовом и имеет пик поглощения в данной области [7, 8]. При отсутствии стандартного образца в формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения гиперозида ($E_{1\%}^{1\text{см}}$) – 330 [9]. Оптимальные условия экстрагирования были подобраны экспериментальным путем. Опробованы следующие методы: мацерация, а также мацерации с использованием ультразвуковой бани с частотой 40 кГц при температурном режиме 40°C [1] и предложенный нами метод экстракции в режиме вакуумного кипения. Менялись основные параметры экстрагирования (табл. 1), такие как концентрация экстрагента – в данной ситуации используется спирт этиловый разной

концентрации; время экстракции – продолжительность воздействия экстрагента на сырье; использование ультразвуковой бани – ультразвук помогает разрушать клеточные структуры растений, облегчая доступ экстрагента к активным веществам. это ускоряет процесс экстракции и повышает её эффективность; экстракция в режиме вакуумного кипения основным преимуществом является скорость процесса.

Для лучшего прохождения экстракции в режиме вакуумного кипения использовали растворитель в кислой среде с рН=2. Электронные спектры снимали с помощью УФ-спектрофотометра UNICO 2800 (рис. 1).

Таблица 1. Влияние различных факторов на полноту извлечения из травы астрагала эспарцетового (*Astragalus onobrychis* L.)

Концентрация этилового спирта, %	Соотношение «сырье : экстрагент»	Время экстракции, мин	Содержание суммы флавоноидов, %
96	1:100	30 мин. водяная баня	1,05±0,02
70	1:100	30 мин. водяная баня	1,53±0,02
50	1:100	30 мин. водяная баня	1,37±0,03
40	1:100	30 мин. водяная баня	1,45±0,03
70	1:100	60 мин. водяная баня	2,42±0,04
70	1:100	90 мин. водяная баня	2,93±0,04
70	1:100	15 мин. водяная баня +15 мин. УЗ	1,53±0,02
70	1:50	20 мин. в режиме вакуумного кипения	1,85±0,04
70	1:100	20 мин. в режиме вакуумного кипения	2,95±0,04

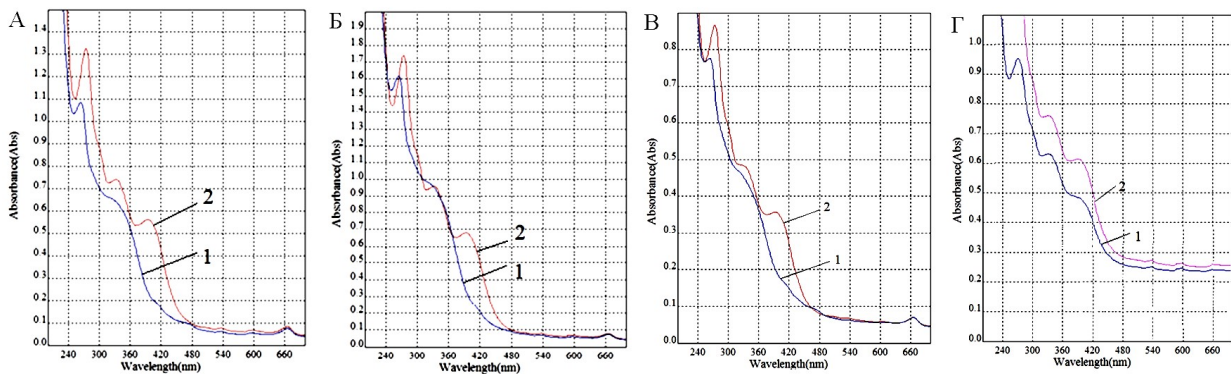


Рис. 1. Электронные спектры раствора водно-спиртового извлечения травы (1) астрагала эспарцетового с 5% раствором алюминия хлорида (2). А – мацерация 70% спиртом 60 мин. на водяной бане; Б – мацерация 70% спиртом 90 мин. на водяной бане; В – мацерация 70% спиртом 15 мин. на водяной бане + 15 мин. УЗ; Г – режим вакуумного кипения 70% спирт 20 мин.

Было проведено сравнительное определение суммы флавоноидов в экстрактах, полученных из астрагала эспарцетового разных производителей (табл. 2).

Таблица 2. Количественное содержание суммы флавоноидов в траве астрагала эспарцетового (*Astragalus onobrychis* L.) разных производителей

№	Производитель	Условия экстракции	Содержание суммы флавоноидов, %
1	ООО «Травы Горного Крыма», Россия, Крым, 2024 год	1:100, экстрагент 70% спирт, в режиме вакуумного кипения 20 мин.	2,93±0,04
2	ООО «Русские корни», Россия, Ростовская обл., 2024 год	1:100, экстрагент 70% спирт, в режиме вакуумного кипения 20 мин.	2,91±0,04
3	ООО «Вита», Россия, г. Барнаул, 2024 г.	1:100, экстрагент 70% спирт, в режиме вакуумного кипения 20 мин.	2,97±0,04

Методика количественного определения суммы флавоноидов в водно-спиртовом извлечении травы астрагала эспарцетового. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 100 мл, 70% спирта этилового. Колбу закрывают пробкой, взвешивают с точностью до $\pm 0,01$, помещают в ротационный испаритель (умеренное кипение) и добавляют 2 мл, 6% уксусной кислоты в течение 20 мин., при температуре 60°C. После чего взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса). Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1,0 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 2,0 мл 5% алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 96% спиртом этиловым. Измеряют оптическую плотность на спектрофотометре через 30 мин., после появления устойчивого окрашивания, при длине волны 399 нм, в результате виден батохромный сдвиг (рис.1 Г.) В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 1,0 мл извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора 96% спиртом этиловым до метки.

Результаты исследования и их обсуждение

Предлагаемый метод вакуумного кипения позволяет решить проблему затрат времени на проведение анализа и повысить точность результатов [4, 5]. Таким образом, исследование направлено на разработку надежной и эффективной методики количественного определения флавоноидов в траве астрагала эспарцетового, что имеет большое значение для фармацевтической промышленности и медицинской практики [6]. В результате количественного определения суммы флавоноидов методом прямой спектрофотометрии травы астрагала эспарцетового, содержание рассчитывали в % по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times 100 \times 100}{m \times 330 \times (100 - W) \times 2}$$

, где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 330 – удельный показатель превращения гиперозида; W – потеря в массе при высушивании, в процентах.

Оптимальными условиями экстрагирования были выявлены: соотношение «сырье : экстрагент» 1:100, экстрагент – спирт 70%, для лучшего выхода действующих веществ экстрагент подкисляли до pH=2, 6% уксусной кислотой. Время экстракции – 20 мин. в режиме вакуумного кипения при $t=60^\circ\text{C}$. Сумма флавоноидов (в пересчете на гиперозид) составила $2,95\% \pm 0,04$. Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в режиме вакуумного кипения в сырье астрагала эспарцетового представлены в таблице 2.

Таблица 2. Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в сырье астрагала эспарцетового (*Astragalus onobrychis* L.)

f	\bar{X}	S	$P, \%$	$t(P, f)$	ΔX	$E, \%$
10	2,95	0,0692	95	2,23	$\pm 0,1545$	$\pm 5,24$

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы флавоноидов составляет $\pm 5,24\%$.

Заключение

Проанализированы условия и параметры экстрагирования травы астрагала эспарцетового. Способ экстракции с использованием ультразвуковой ванны с частотой 40 кГц при температурном режиме 40°C, не увеличил выход флавоноидов для данного вида астрагала. В представленной статье представлена разработанная авторами методика спектрофотометрического количественного определения суммы флавоноидов в траве астрагала эспарцетового (в пересчете на гиперозид) при использовании экстракции в режиме вакуумного кипения, в течение 20 мин. при температуре

60°C. Преимущества метода вакуумного кипения: разрыхление глубоких слоев: вакуумное кипение способствует разрыхлению более глубоких слоев структуры материала, что улучшает смачивание и пропитку сырья экстрагентом; эффективная экстракция: создаются оптимальные условия для эффективного извлечения биологически активных веществ, включая флавоноиды; сокращение времени анализа: усовершенствованная методика позволяет значительно уменьшить время, необходимое для проведения анализа; увеличение выхода действующих веществ: метод обеспечивает больший выход экстрактивных веществ по сравнению с классическими фармакопейными методами.

Содержание суммы флавоноидов в сырье равно 2,95%. Разработанная методика по сравнению с фармакопейными методами позволяет существенно сократить время исследования и при этом получить достаточно высокое содержание действующих веществ. Исходя из полученных данных, можно рекомендовать нижний предел содержания суммы флавоноидов в астрагале эспарцетовом, не менее 2,5±0,04%.

Литература (references)

1. Государственная фармакопея XV издания. 04.07.2024. URL:<https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-5/1-5-2/travy/> [Gosudarstvennaya farmakopeya XV izdaniya. 04.04.2025. URL:<https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-5/1-5-2/travy/> (in Russian)]
2. Куркин В.А. Фармакогнозия / В.А. Куркин. – Самара: Офорт, 2004. – 1179. [Kurkin V.A. Farmakognosiya. Pharmakognosiya. Samara: Ofort, 2004. – 1179 p. (in Russian)]
3. Куркин, В.А. Актуальные аспекты стандартизации видов лекарственного растительного сырья, включенных в государственную фармакопею российской федерации XIII издания // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – Самара, 2016. – Т.18, №2(3). – С. 730-736. [Kurkin, V.A. Actual aspects of standardization of medicinal plant raw materials included in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation of the XIII edition // Izvestiya Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. – 2016. – V.18, N2(3). – P.730-736. (in Russian)]
4. Молчанов Г.И. Интенсивная обработка лекарственного сырья. – М.: Медицина, 1981. – 208 с. [Molchanov G.I. Intensive processing of medicinal raw materials. – M.: Medicine, 1981. – 208 p. (in Russian)]
5. Самылина И.А. Фармакогнозия: учебник / И. А. Самылина, Г. П. Яковлев - Москва: ГЭОТАР-Медиа – 2016. – С. 102-104 [Samylina, I. A. Farmakognozija: uchebnik / I.A. Samylina, G.P. Jakovlev A. Moskva: GJeOTAR-Media – 2016. – P. 102-104. (in Russian)]
6. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья. – М., Медицина, 1976. – 204 с. [Ponomarev V.D. Ekstragirovanie lekarstvennogo syr'ya. – M., Medicina, 1976. – 204 p. (in Russian)]
7. Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний ОФС.1.1.0013. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. – 04.04.2025. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/statisticheskaya-obrabotka-rezultatovfizicheskikh-fiziko-khimicheskikh-i-khimicheskikh-ispytaniy/> [Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii XV izdaniya. General pharmacopoeia statistics. (in Russian)]
8. Чуешов В.И., Чернов М.Ю., Хохлова Л.М. и др. Промышленная технология лекарств: Учебник для студентов высших учебных заведений. В 2-х т. – Т.2 – Харьков: НФАУ МТК – Книга, 1999. – 704 с. [Chueshov V.I., Chernov M.Yu., Hohlova L.M. i dr. Promyshlennaya tekhnologiya lekarstv: Uchebnik dlya studentov vysshih uchebnyh zavedenij. V 2-h t. – V.2 – Har'kov: NFAU MTK – Kniga, 1999. – 704 p. (in Russian)]
9. Bao T., Wang Y., Sun C. et al. Optimization of flavonoids extraction from Tartary buckwheat rice and analysis of its hypoglycemic activity // Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering. – 2016. – V.32, N2. – P. 383-389.
10. Li J., Yang P., Yang Q. et al. Analysis of flavonoid metabolites in buckwheat leaves using UPLC-ESI-MS/MS // Molecules. – 2019. – V.24. – P. 1310.
11. Rui J., Hua-Qiang L., Chang-Ling H. et al. Phytochemical and Pharmacological Profiles of Three Fagopyrum Buckwheats // International Journal of Molecular Sciences. – 2016. – V.17. – P. 589.
12. Sonam T., Talat A., Sanjay S. An incisive review on Buckwheat – A potential underutilized millet // Journal of Drug Research in Ayurvedic Sciences. – 2023. – V.8. – P. 64-75.

Информация об авторах

Лабковская Майя Викторовна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: labkovskayam@bk.ru

Шмыгарева Анна Анатольевна – доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: a.shmygareva@mail.ru

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Кочукова Анна Александровна – кандидат биологических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: annet512@rambler.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 06.03.2025

Принята к печати 28.11.2025