

К.И. Карчевская

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ВОДНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ
ФЛАВОНОИДОВ ИЗ ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА ТРАВЫ**

Научный руководитель: канд. фарм. наук, доц. Р.И. Лукашов

Кафедра фармацевтической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

K.I. Karchevskaya

**QUANTITATIVE DETERMINATION AND AQUEOUS EXTRACTION
OF FLAVONOIDS FROM YARROW HERB**

Tutor: cand. farm. sciences, associate professor R.I. Lukashou

Department of Pharmaceutical Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В данной статье представлены результаты разработки методики количественного определения флавоноидов тысячелистника травы, а также параметры их водной экстракции, позволяющие получить водные извлечения с максимальным количеством флавоноидов.

Ключевые слова: флавоноиды, спектрофотометрия, *Achillea millefolium*, лютеолин-7-О-глюкозид, количественное определение.

Resume. This article presents the results of the development of a method for the quantitative determination of yarrow herb flavonoids, as well as the parameters of their aqueous extraction, which make it possible to obtain aqueous extracts with the maximum amount of flavonoids.

Keywords: flavonoids, spectrophotometry, *Achillea millefolium*, luteolin-7-O-glucoside, quantitation.

Актуальность. Государственная фармакопея Республики Беларусь (РБ), Казахстана, Британии, Украины, а также Европейская фармакопея предлагают стандартизировать тысячелистника траву только по содержанию эфирного масла, однако ряд эффектов обусловлен наличием в рассматриваемом растении флавоноидов. Изучение условий их количественного определения (КО) может помочь с разработкой методики стандартизации данного лекарственного растительного сырья (ЛРС) по флавоноидам. Также на данный момент в РБ зарегистрировано как лекарственное средство измельченное ЛРС – тысячелистника трава в фильтр-пакетах (ф/п), бумажных пакетах и картонных пачках, одним из показаний к применению которого является симптоматическое лечение болей спастического характера во время менструации после получения водного извлечения (чая/настоя). Однако существующая технология приготовления чая/настоя, представленная в инструкции по медицинскому применению, разработана с учетом стандартизации тысячелистника травы по содержанию эфирного масла (как указано в ГФ РБ) и не учитывает содержание флавоноидов, обуславливающих спазмолитическое действие [1]. Разработка технологии получения чая/настоя позволит повысить эффективность использования данного ЛРС путем наиболее полного извлечения из него флавоноидов.

Цель: разработка методики КО флавоноидов, изучение экстракции флавоноидов из тысячелистника травы и их высвобождения в воду при получении настоев, отваров, чаев.

Материал и методы. При разработке методики КО взвешивали точные навески массой $0,05 \pm 0,003$ г тысячелистника травы, предварительно измельченной и просеянной через сито с размером отверстий 180 мкм. Для работы взяли фракцию, прошедшую через сито. Для экстракции использовали 80% метанол объемом $5,00 \pm 0,250$ мл. Экстракцию проводили на водяной бане в течение 60 мин при 80°C в плотно закупоренных флаконах с завинчивающейся крышкой. После экстракции проводили фильтрацию полученного извлечения, полученный фильтрат использовали для исследований. Представленные выше параметры экстракции были подобраны экспериментально в предыдущих исследованиях.

Для приготовления испытуемого раствора к $100 \pm 5,00$ мкл извлечения прибавляли 200–1400 мкл (с шагом 200 мкл) 1-5% (с шагом 1%) раствора AlCl_3 водного, а также 10, 25, 50, 75 и 100 мкл ледяной уксусной кислоты и доводили водой до $5,00 \pm 0,250$ мл.

Для приготовления компенсационного раствора к $100 \pm 5,00$ мкл извлечения добавляли 10, 25, 50, 75 и 100 мкл кислоты уксусной ледяной, после чего доводили полученную смесь водой до $5,00 \pm 0,250$ мл. Через 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 и 100 мин измеряли оптическую плотность испытуемого раствора при 400 нм против компенсационного раствора.

При разработке технологии приготовления чая изучалось влияние времени, кратности настаивания, соотношения ЛРС и воды, наличия и параметров ф/п на высвобождение флавоноидов в горячую воду.

При разработке технологии настоя/отвара изучалось влияние времени нагревания на кипящей водяной бане и последующего настаивания при комнатной температуре, а также влияние соотношения ЛРС и воды на высвобождение флавоноидов.

Результаты и их обсуждение. Процентное содержание флавоноидов в извлечениях при использовании 1-5% (с шагом 1%) раствора AlCl_3 равно $3,59 \pm 0,18$; $3,59 \pm 0,18$; $3,57 \pm 0,18$; $3,78 \pm 0,19$ и $3,76 \pm 0,19\%$ соответственно.

Процентное содержание флавоноидов в извлечениях при добавлении 4% раствора AlCl_3 в объеме 200–1400 мкл (с шагом 200 мкл) равно $3,82 \pm 0,19$; $3,78 \pm 0,19$; $3,87 \pm 0,19$; $3,73 \pm 0,19$; $3,77 \pm 0,19$; $3,61 \pm 0,18$ и $3,79 \pm 0,19\%$ соответственно.

Процентное содержание флавоноидов в извлечениях при добавлении 10, 25, 50, 75 и 100 мкл кислоты уксусной ледяной равно $4,85 \pm 0,24$; $4,39 \pm 0,22$; $3,82 \pm 0,19$; $3,89 \pm 0,20$ и $3,69 \pm 0,19\%$ соответственно.

Процентное содержание флавоноидов в извлечениях при времени реакции 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 и 100 мин между флавоноидами и AlCl_3 составило $4,44 \pm 0,22$; $4,60 \pm 0,23$; $4,70 \pm 0,24$; $4,76 \pm 0,24$; $4,86 \pm 0,24$; $4,93 \pm 0,25$; $4,97 \pm 0,25$; $5,00 \pm 0,25$; $5,02 \pm 0,25$; $5,05 \pm 0,25$; $5,06 \pm 0,25$ и $5,07 \pm 0,25\%$ соответственно.

Процентное содержание флавоноидов в чае, полученном при времени его настаивания равном 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 и 60 мин составило $1,01 \pm 0,05$; $1,12 \pm 0,06$; $1,22 \pm 0,06$; $1,28 \pm 0,06$; $1,29 \pm 0,06$; $1,32 \pm 0,07$; $1,40 \pm 0,07$ и $1,39 \pm 0,07\%$ соответственно.

Процентное содержание флавоноидов в чае, полученном при соотношении ЛРС и воды 1 к 25, 1 к 50, 1 к 100 и 1 к 200 составило $0,76 \pm 0,04$; $1,01 \pm 0,05$; $1,21 \pm 0,06$ и $1,60 \pm 0,08\%$ соответственно.

Процентное содержание флавоноидов при использовании ф/п прямоугольного бумажного из бумаги низкой плотности ($6,5 \times 6,5$) составило $2,02 \pm 0,10\%$, ф/п в форме

пирамидки из нетканого материала (5,2*5,5) – 2,05±0,10%, прямоугольного бумажного ф/п из бумаги высокой плотности (6,2*8,5) – 2,07±0,10%, двойного бумажного ф/п – 2,11±0,11%, прямоугольный бумажного ф/п из бумаги низкой плотности (9,5*6) – 2,14±0,11%, прямоугольного ф/п из нетканого материала (7*4,5) – 2,14±0,11%, ф/п в форме пирамидки из мелкоячеистой пластиковой сетки (5,2*5,5) – 2,16±0,11%.

Процентное содержание флавоноидов при одно-, дву- и трехкратном заваривании ф/п составило 1,53±0,08; 0,58±0,03 и 0,49±0,02 соответственно.

Процентное содержание флавоноидов в водных извлечениях, полученных при соотношении ЛРС и воды 1 к 10, 1 к 25, 1 к 50, 1 к 100 и 1 к 200, составило 0,63±0,03; 0,78±0,04; 1,01±0,05; 1,69±0,09 и 1,87±0,09% соответственно.

Процентное содержание флавоноидов в извлечениях, полученных при нагревании на кипящей водяной бане и последующем настаивании при комнатной температуре в течение 5/55, 10/50, 15/45, 20/40, 30/30, 40/20, 45/15, 50/10, 55/5, 60/0 мин составило 1,66±0,08; 1,87±0,09; 1,92±0,10; 1,99±0,10; 2,13±0,10; 2,36±0,12; 2,44±0,12; 2,46±0,12; 2,46±0,12 и 2,45±0,12% соответственно.

Заключение. Для КО флавоноидов тысячелистника травы оптимальным является добавление 4% водного раствора $AlCl_3$ в объеме 200±10,0 мкл для приготовления испытуемого раствора и ледяной уксусной кислоты в объеме 10,0±0,500 мкл для приготовления как испытуемого, так и компенсационного раствора, оптимальное время реакции между флавоноидами и $AlCl_3$ равно 60 мин.

Для приготовления чая в домашних условиях с наибольшим содержанием флавоноидов при использовании ф/п с тысячелистника травой необходимо: 1 ф/п в форме пирамидки из мелкоячеистой пластиковой сетки поместить в стеклянную посуду, залить кипяченой горячей водой (соотношение сырья и воды 1:200), закрыть крышкой и настаивать в течение 50 мин. Заваривание одного ф/п производить однократно.

Для приготовления настоя/отвара в домашних условиях оптимально тысячелистника траву поместить в подходящую посуду, залить водой комнатной температуры (соотношение сырья и воды 1 к 200), закрыть крышкой, нагревать на кипящей водяной бане 20/50 мин, затем настаивать при комнатной температуре в течение 40/10 мин соответственно, затем процедить, сырье отжать и довести до нужного объема кипяченой водой.

Информация о внедрении результатов исследования. По результатам настоящего исследования опубликовано 5 статей в сборниках материалов, 2 тезисов докладов, 2 статьи в журналах, получено 4 акта внедрения в образовательный процесс (кафедра организации фармации, фармацевтической технологии УО БГМУ),

Литература

1. Реестр лекарственных средств Республики Беларусь [Электронный ресурс] / УП Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении. – Электрон.дан. – Минск, 2017. – Режим доступа к ресурсу: <http://www.rceth.by/Refbank/>. (дата обращения: 23.05.2022).