

УДК 543.422.3:615.322:582.991

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2025.4.24 EDN: NPZRJA

**РАЗРАБОТКА УСЛОВИЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ ЗОЛОТАРНИКА КАНАДСКОГО ТРАВЫ**

© Лукашов Р.И.

*Белорусский государственный медицинский университет, Республика Беларусь, 220083, Минск, пр-т Дзержинского, 83**Резюме*

**Цель.** Разработать спектрофотометрические условия количественного определения флавоноидов золотарника канадского травы.

**Методика.** Объект исследования – золотарника канадского трава, высушенная воздушно-теневым способом. Проведена апробация 16 методик количественного спектрофотометрического определения флавоноидов из Государственной фармакопеи Республики Беларусь на золотарника канадского траве. Выбор базовой методики для разработки параметров количественного определения осуществляли путем сопоставления результатов, полученных по спектрофотометрическим методикам, с высокоэффективной жидкостной хроматографией. Проводили статистическую обработку данных с использованием критерия Стьюдента.

**Результаты.** Выбрана базовая методика количественного определения флавоноидов. Спектры поглощения извлечения из золотарника и стандартного образца изокверцитрина схожи. Оптимальными параметрами спектрофотометрического определения флавоноидов золотарника канадского травы являются: концентрация раствора алюминия хлорида  $P - 50$  г/л; добавляемый объем раствора алюминия хлорида  $P - 3,0$  мл; объем кислоты уксусной разведенной  $P - 50$  мкл; концентрация раствора гексаметилентетрамина  $P - 70$  г/л; добавляемый объем раствора гексаметилентетрамина  $P - 0,4$  мл; длительность протекания реакции – 20 мин.

**Заключение.** Разработаны параметры спектрофотометрического определения суммарного содержания флавоноидов в золотарника канадского траве с пересчетом на изокверцитрин. Обоснован выбор методики для количественного определения флавоноидов золотарника канадского.

*Ключевые слова:* золотарника канадского трава, количественное определение, флавоноиды, методика анализа, спектрофотометрия

**DEVELOPMENT OF CONDITIONS FOR SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF FLAVONOIDS OF CANADIAN GOLDENROD HERB**

Lukashou R.I.

*Belarusian State Medical University, 83, Dzerzhinsky Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus**Abstract*

**Objective.** To develop spectrophotometric conditions for quantitative determination of Canadian goldenrod herb flavonoids.

**Methods.** The object of the study is Canadian goldenrod herb, dried by air-shadow method. We tested 16 methods for quantitative spectrophotometric determination of flavonoids from the State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus on Canadian goldenrod herb. The choice of the basic method for the development of parameters for quantitative determination was carried out by comparing the results obtained by spectrophotometric methods with high-performance liquid chromatography. Statistical processing of the data was carried out using the Student criterion.

**Results.** The basic method for the quantitative determination of flavonoids was selected. The absorption spectra of goldenrod extract and isoquercitrin standard sample are similar. The optimal parameters for spectrophotometric determination of Canadian goldenrod herb flavonoids are: concentration of aluminum

chloride solution – 50 g/l; added volume of aluminum chloride solution – 3.0 ml; volume of diluted acetic acid – 50 µl; concentration of hexamethylenetetramine solution – 70 g/l; added volume of hexamethylenetetramine solution – 0.4 ml; reaction duration – 20 min.

**Conclusion.** The parameters for spectrophotometric determination of total flavonoid content in Canadian goldenrod herb with recalculation to isoquercitrin have been developed. The choice of the method for quantitative determination of Canadian goldenrod flavonoids has been substantiated.

*Keywords:* Canadian goldenrod herb, quantitative determination, flavonoids, analysis method, spectrophotometry

## Введение

Разработка новых и совершенствование существующих методик контроля качества – одно из перспективных направлений исследований в фармации [11]. Особое внимание привлекает разработка методик количественного определения биологически активных веществ (БАВ) лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных средств растительного происхождения [3, 4]. Основными проблемами при разработке таких методик является то, что необходимо объективно оценить содержание группы БАВ, а не одного индивидуального вещества [1]. Для решения данной задачи перспективным представляется следующий подход: использование спектрофотометрии для количественного определения как основного метода из-за ее доступности и простоты, но при разработке методики базироваться на близости данных, полученных спектрофотометрическим методом, с данными, полученными методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [6]. При этом важным моментом при выборе базовой спектрофотометрической методики является системный подход, основанный на апробации фармакопейных методик определения БАВ на конкретном растительном объекте.

Золотарник канадский – сорный вид, широко распространенный на территории Республики Беларусь и Российской Федерации и обладающий ценными фармакологическими свойствами [8]. Заготовку травы данного растения для получения лекарственных препаратов перспективно рассматривать с позиции борьбы с данным сорным видом [7]. Золотарника канадского траву стандартизируют по флавоноидам [12]. Согласно Европейской фармакопее количественное определение флавоноидов золотарника проводят по унифицированной методике: гидролиз до агликонов, спектрофотометрическое определение суммы агликонов с алюминия хлоридом в пересчете на гликозид гиперозид. Недостатками методики являются ее длительность, трудоемкость, большой расход реактивов и то, что нативные флавоноиды золотарника содержат гликозиды [5], которые методика не определяет. Также разработаны методики спектрофотометрического определения флавоноидов золотарника канадского, основанные на реакции с алюминия хлоридом [9, 10]. Однако методики сосредоточены на подборе условий водно-спиртовой экстракции и не проработаны с точки зрения подбора спектрофотометрических параметров (определен только объем и концентрация раствора алюминия хлорида), не установлено влияет ли добавление вспомогательных реагентов на ход протекания реакции, время протекания реакции и др. Поэтому целесообразно провести подбор базовой методики для количественного определения флавоноидов золотарника и разработать условия спектрофотометрического определения.

Цель исследования – разработка спектрофотометрических условий количественного определения флавоноидов золотарника канадского травы.

## Методика

Объектом исследования служила золотарника канадского трава, которую заготовили в фазу массового цветения в августе–сентябре 2018-2022 гг. в местах естественного произрастания в окрестностях д. Новое поле (Минский район), д. Ольгово (Витебский район), д. Заречье (Бобруйский район) и высушили воздушно-теневым способом

Осуществляли выбор среди следующих фармакопейных методик количественного определения флавоноидов: методика определения суммы флавоноидов календулы цветков в пересчете на рутин или гиперозид. Аналогичная методика (с пересчетом на гиперозид) приводится для следующего ЛРС: березы листья; горца птичьего трава; липы цветки; пустырника трава; хвоща полевого трава [2]; методика определения суммы флавоноидов боярышника листьев и цветков. Данная методика

также проводится для фиалки травы, стандартизуют по виолантину; методика определения суммы флавоноидов боярышника листьев; боярышника плодов; бессмертника песчаного цветков; бузины черной цветков; горца перечного травы; дов душицы травы; зверобоя травы; лабазника вязолистного цветков; лапчатки белой травы; многоколосника морщинистого травы; пассифлоры травы, идентична методике определения суммы флавоноидов боярышника листьев и цветков; методика определения суммы флавоноидов сушеницы топяной травы, аналогична методике определения суммы флавоноидов боярышника плодов; методика определения суммы флавоноидов череды травы. Измерения оптической плотности выполнены на спектрофотометре Solar PB 2201 (ЗАО «Солар», Республика Беларусь). Сопоставляли близость результатов, полученных по выше перечисленным спектрофотометрическим методикам, с ВЭЖХ. Выбирали наиболее близкие между собой.

Затем модифицировали выбранную методику, адаптируя ее для золотарника канадского травы путем подбора следующих условий спектрофотометрического определения: концентрация раствора алюминия хлорида Р в спирте (70%, об/об) Р; добавляемый объем раствора алюминия хлорида Р в спирте (70%, об/об); объем кислоты уксусной разведенной Р; концентрация раствора гексаметилентетрамина Р; добавляемый объем раствора гексаметилентетрамина Р; длительность протекания реакции. Исследования выполняли поэтапно с учетом вышеуказанной последовательности.

Статистическую обработку выполнили при помощи компьютерной программы Microsoft Office Excel 2016 (пакет «Анализ данных»). Каждое испытание выполняли три раза ( $n = 3$ ;  $P = 0,95$ ). Результаты представляли в виде  $\bar{X} \pm \Delta_{\bar{X}}$ , где  $\bar{X}$  – среднее;  $\Delta_{\bar{X}}$  – полуширина доверительного интервала среднего.

## Результаты исследования и их обсуждение

Результаты количественного определения флавоноидов в золотарника канадского траве при помощи фармакопейных методик и максимумы поглощения полученных извлечений представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты определения флавоноидов золотарника по фармакопейным методикам

Фармакопейная методика			Результаты исследования	
Объект, для которого используется методика	Стандартный образец, используемый в методике	$\lambda_{\max}$ , нм	Золотарника канадского трава	
			$\lambda_{\max}$ , нм	%
Календулы цветки	гиперозид	425	425	0,82±0,067
Календулы цветки	рутин	408	408	1,57±0,123
Боярышника листья и цветки	гиперозид	410	410	17,1±1,25
Боярышника листья	рутин	409	414	18,4±1,39
Боярышника плоды	гиперозид	365	332	0,34±0,040
Бессмертника песчаного цветки	рутин	411	406	12,5±0,952
Бузины черной цветки	рутин	407	407	8,21±1,00
Горца перечного трава	кверцетин	430	408	3,90±0,571
Душицы трава	лютеолин	400	408	1,68±0,120
Зверобоя трава	рутин	415	403	5,29±0,100
Лабазника вязолистного цветки	спиреозид	420	420	5,42±0,490
Лапчатки белой трава	рутин	412	407	2,59±0,120
Многоколосника морщинистого трава	лютеолин	330	330	9,32±0,625
Пассифлоры трава	виолантин	401	401	13,8±1,00
Сушеницы топяной трава	нафалозид А	338	338	0,31±0,028
Череды трава	лютеолин-7-гликозид	510	510	7,92±1,00

Из таблицы видно, что для золотарника канадского травы можно выделить три методики с результатами, близкими к ВЭЖХ: бузины черной цветки (8,21%), многоколосника морщинистого трава (9,32%) и череды трава (7,92%). Однако при спектрофотометрии раствора стандартного образца изокверцитрина по методике многоколосника морщинистого травы выявлена низкая оптическая плотность, для извлечения она выше, что указывает на вклад в поглощение извлечения не только флавоноидов, но и других БАВ. При спектрофотометрии раствора изокверцитрина по методике череды травы при характерной длине волны в 510 нм наблюдали низкое поглощение в отличие от извлечения, где оно выше. Данный факт говорит о том, что в реакцию изокверцитрин практически не вступает в отличие от других БАВ. Для извлечения и изокверцитрина по методике бузины черной цветков оптическая плотность входила в оптимальный диапазон от 0,2 до 0,8. При чем в данной методике идет пересчет на изокверцитрин, который доминирует в золотарника канадского траве [5].

Спектры поглощения испытуемого раствора и стандартного образца изокверцитрина, полученные при воспроизведении методики бузины черной листьев, представлены на рис. 2 и 3 соответственно.

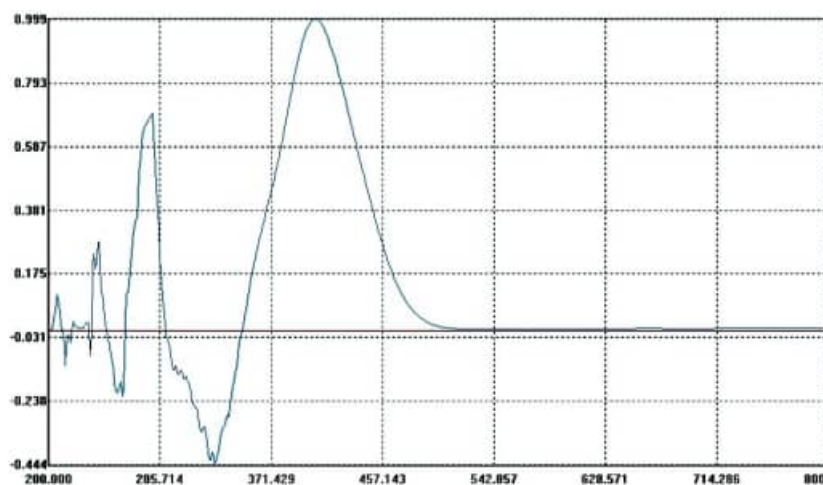


Рис. 2. Спектр поглощения испытуемого раствора извлечения золотарника канадского травы, полученного при воспроизведении методики бузина черной цветков

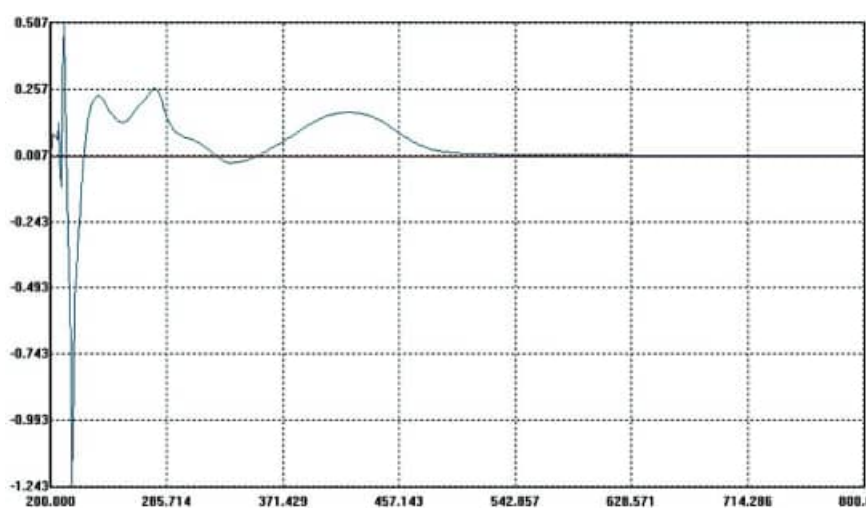


Рис. 3. Спектр поглощения испытуемого раствора изокверцитрина, полученного при воспроизведении методики бузины черной цветков

Из рис. 2 и 3 видно, что максимумы поглощения испытуемого раствора ( $407 \pm 4$  нм) и раствора стандартного образца изокверцитрина ( $407 \pm 4$  нм) совпадали ( $p=0,50$ ). Из рис. 4-6 следует, что наибольшие значения оптической плотности характерны для следующих условий спектрофотометрического определения флавоноидов золотарника канадского травы: концентрация раствора алюминия хлорида  $P - 50$  г/л; добавляемый объем раствора алюминия

хлорида Р – 3,0 мл; объём кислоты уксусной разведенной Р – 50 мкл; концентрация раствора гексаметилентетрамина Р – 70 г/л; добавляемый объем раствора гексаметилентетрамина Р – 0,4 мл; длительность протекания реакции – 15-25 мин (среднее 20 мин).

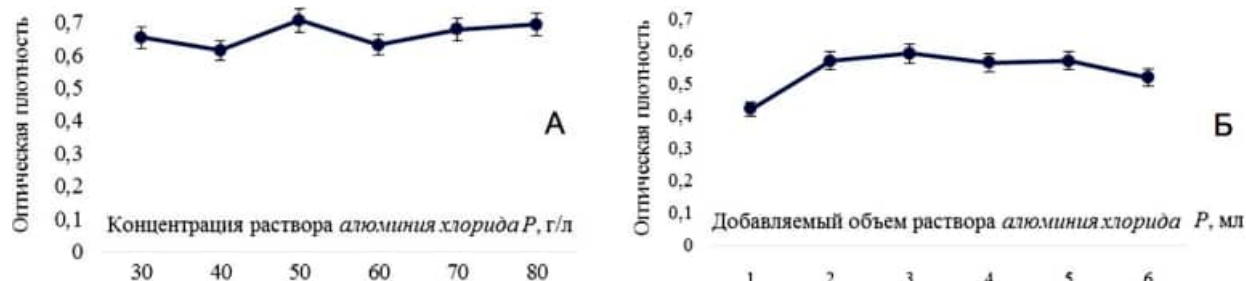


Рис. 4. Зависимость оптической плотности от концентрации раствора алюминия хлорида Р (А), от добавляемого объема раствора алюминия хлорида Р (Б)

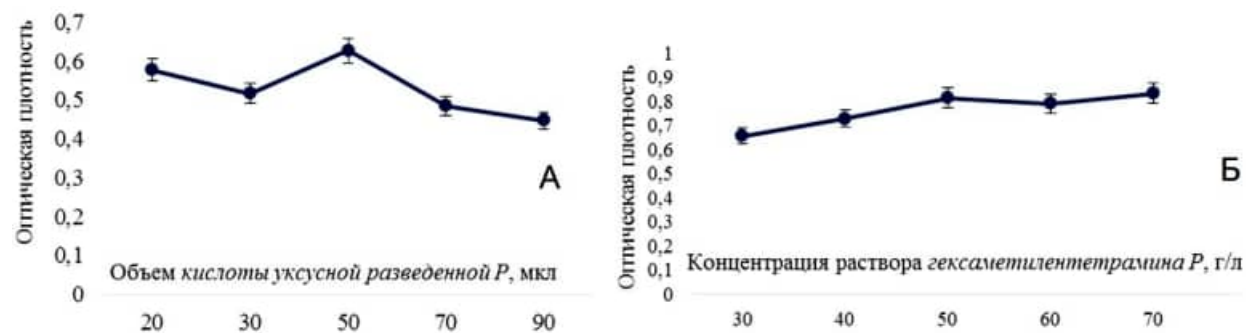


Рис. 5. Зависимость оптической плотности от объема кислоты уксусной разведенной Р (А); от концентрации раствора гексаметилентетрамина Р (Б)

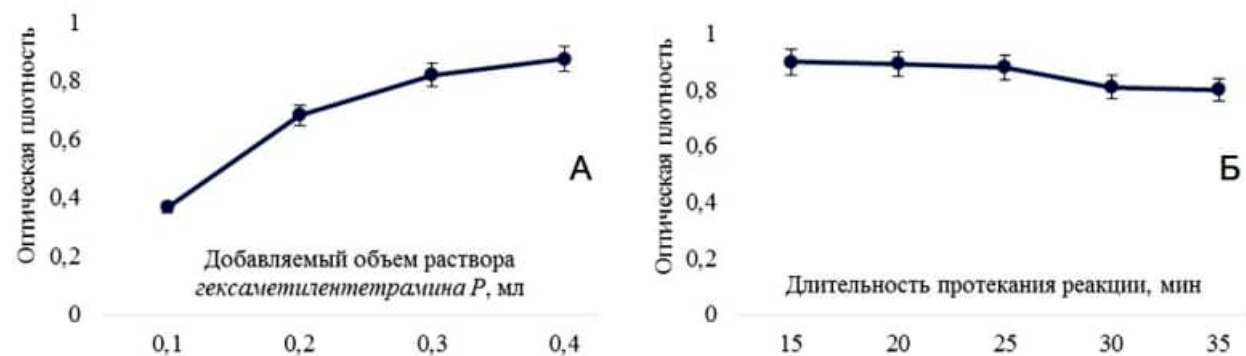


Рис. 6. Зависимость оптической плотности от добавляемого объема раствора гексаметилентетрамина Р (А); от длительности протекания реакции (Б)

Дисперсионный анализ влияния условий спектрофотометрического определения на оптическую плотность показал, что концентрация раствора алюминия хлорида Р ( $p=0,028$ ); добавляемый объем раствора алюминия хлорида Р ( $p=0,048$ ); объем кислоты уксусной разведенной Р ( $p=0,018$ ); концентрация раствора гексаметилентетрамина Р ( $p=0,020$ ), добавляемый объем раствора гексаметилентетрамина Р ( $p=0,040$ ) и длительность протекания реакции ( $p=0,020$ ) статистически значимо влияли на оптическую плотность. Таким образом, количественное определение флавоноидов золотарника канадского травы проводится путем добавления к 2,00 мл извлечения 15 мл спирта (70%, об/об) Р, 50 мкл кислоты уксусной разведенной Р, 3,0 мл раствора 50 г/л алюминия хлорида Р в спирте (70%, об/об) Р, 0,4 мл раствора 70 г/л гексаметилентетрамина Р и доводят спиртом (70%, об/об) Р до объема 50,0 мл.

Компенсационный раствор. К 2,00 мл извлечения прибавляют 15 мл спирта (70%, об/об) Р, 50 мкл кислоты уксусной разведенной Р, 0,4 мл раствора 70 г/л гексаметилентетрамина Р и доводят спиртом (70%, об/об) Р до объема 50,0 мл. В среднем через 20 мин. измеряют оптическую плотность испытуемого раствора при 407 нм против компенсационного раствора.

Пересчет проводили методом одного стандарта на изокверцитрин. Для стандартного образца изокверцитрина готовили испытуемый раствор как описано выше, добавляя вместо 2,00 мл извлечения 0,500 мл раствора 1 г/л изокверцитрина Р. Компенсационный раствор готовили без добавления алюминия хлорида Р.

В фармакопейной методике определения (по Европейской фармакопее) суммы флавоноидов золотарника травы в пересчёте на гиперозид проводят путем трёхкратную экстракции в солянокислой среде при кипении раствора ацетона Р, четырёхкратной очистки этилацетатом Р, что, в итоге, трудоемко и длительно по времени и не позволяет анализировать нативные флавоноиды извлечения, а только продукты их гидролиза – агликоны [12]. При воспроизведении такой методики содержание веществ в 10 раз меньше, чем при использовании модифицированной.

Модифицированная методика позволяет снизить расход реактивов (не используют ацетон Р, этилацетат Р, кислоту хлористоводородную Р<sub>1</sub>, натрия сульфат безводный), уменьшить трудоемкость за счет сокращения операций гидролиза, жидкость-жидкостной экстракции и обезвоживания и сократить время реакции в 1,5 раза. В статьях [9, 10] описаны условия спектрофотометрического определения, несколько отличаются от указанных выше в отношении объема и концентрации раствора алюминия хлорида, что связано с введением в реакционную смесь гексаметилентетрамина для облегчения протекания реакции флавоноидов золотарника с алюминия хлоридом. Введение данного реагента позволяет определять максимально полно нативный комплекс флавоноидов за счет создания слабо щелочной среды, в которой легче протекает реакция комплексообразования.

## Заключение

Таким образом, оптимальными параметрами спектрофотометрического определения флавоноидов золотарника канадского травы являлись: концентрация раствора алюминия хлорида Р – 50 г/л; добавляемый объем раствора алюминия хлорида Р – 3,0 мл; объем кислоты уксусной разведенной Р – 50 мкл; концентрация раствора гексаметилентетрамина Р – 70 г/л; добавляемый объем раствора гексаметилентетрамина Р – 0,4 мл; длительность протекания реакции – 20 мин.

## Литература (references)

1. Айрапетян Э.Э., Леонова В.Н., Коновалов Д.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в полыни метельчатой траве // Человек и его здоровье. – 2022. – Т.25. – №2. – С. 105-112. [Aïrapetyan E.E., Leonova V.N., Kononov D.A. Humans and their health. – 2022. – V.25. – N2. – P. 105-112. (in Russian)]
2. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 2-х томах. Том 2. Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья. – Молодечно: Победа, 2016. – 1368 с. [State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. In 2 volumes. Volume 2. Quality control of substances for pharmaceutical use and medicinal plant materials. – Molodechno: Pobeda, 2016. – 1368 p.]
3. Ковалёва Н.А., Тринеева О.В., Чуви́кова И.В., Сливкин А.И. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной методом спектрофотометрии // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2023. – Т.13. – №2. – С. 216-226 [Kovalyova N.A., Trineeva O.V., Chuvikova I.V., Slivkin A.I. Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical Products. Regulatory research and expertise of medicines. – 2023. – V.13. – N2. – P. 216-226. (in Russian)]
4. Куркин В.А., Казакова М.А. Разработка методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в листьях мяты перечной // Химия растительного сырья. – 2024. – №3. – С. 161-168. [Kurkin V.A., Kazakova M.A. Chemistry of plant raw materials. – 2024. – N3. – P. 161-168. (in Russian)]
5. Лужанин В.Г., Уэйли А.К., Понкратова А.О. и др. Выделение индивидуальных соединений из наземной части стальника полевого (*Ononis arvensis* L.) и золотарника канадского (*Solidago canadensis*

- L.) // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т.10, №1. – С. 83-89. [Luzhanin V.G., Uejli A.K., Ponkratova A.O. i dr. Development and registration of medicines. – 2021. – V.10, N1. – P. 83-89. (in Russian)]
6. Матвиенко У.А., Дурнова Н.А., Полуянов А.М., Бобкова Н.В., Раменская Г.В. ВЭЖХ-УФ-анализ гликозидов флавоноидов в траве *Astragalus* (*A. dasyanthus*, *A. varius*, *A. testiculatus*, *A. henningii*), произрастающих на территории Поволжья // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2024. – Т.13, №1. – С. 139-148. [Matvienko U.A., Durnova N.A., Poluyanov A.M., Bobkova N.V., Ramenskaya G.V. Drug development & registration. – 2024. – V.13, N1. – P. 139-148. (in Russian)]
  7. Прохоров В.Н., Ламан Н.А. Золотарник канадский (*Solidago canadensis* L.): биологические особенности, хозяйственное использование и меры ограничения распространения // Ботаника (исследования). – 2018. – Вып. 47. – С. 150-168. [Prokhorov V.N., Laman N.A. Botany (research). – 2018. – Issue 47. – P. 150-168. (in Russian)]
  8. Сулейманова Ф.Ш., Нестерова О.В., Матюшин А.А. Исторический опыт и перспективы использования травы золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) в медицине // Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. – Т.19., №4. – С. 142-149. [Sulejmanova F.SH., Nesterova O.V., Matyushin A.A. Health and education in the 21st century. – 2017. – V.19., N4. – P. 142-149. (in Russian)]
  9. Сулоев И.С., Понкратова А.О., Дудецкая Н.А., Теслов Л.С., Лужанин В.Г. Стандартизация травы золотарника канадского // Фармация. – 2020. – Т.69., №8. – С. 13-20. [Suloev I.S., Ponkratova A.O., Dudetskaya N.A., Teslov L.S., Luzhanin V.G. Pharmacy. – 2020. – V.69., N8. – P. 13-20. (in Russian)]
  10. Тохтабаева Г.М., Баслинов С.Л., Копылова И.Е., Сокольская Т.А., Бурова А.Е. Усовершенствование методики количественного определения суммы флавоноидов в траве золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2013. – №10. – С. 4-8. [Tokhtabaeva G.M., Baslinov S.L., Kopylova I.E., Sokolskaya T.A., Burova A.E. Issues of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry. – 2013. – N10. – P. 4-8. (in Russian)]
  11. Фетисова А.В., Аладышева Ж.И., Пятигорская Н.В., Зырянов О.А., Маршалова М.М. Международные подходы к разработке, валидации и внесению изменений в аналитические методики (обзор) // Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2024. – Т.14, №5. – С. 561-571. [Fetisova A.V., Aladysheva Zh.I., Pyatigorskaya N.V., Zyryanov O.A., Marshalova M.M. Regulatory Research and Medicine Evaluation. – 2024. – V.14, N5. – P. 561-571. (in Russian)]
  12. European Pharmacopoeia: EDQM. 11th Edition. Access at: <http://www.edqm.eu/> (accessed 25 April 2025).

### Информация об авторе

Лукашов Роман Игоревич – кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармацевтической химии с курсом повышения квалификации и переподготовки кадров учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Республики Беларусь. E-mail: [r\\_lukashov@mail.ru](mailto:r_lukashov@mail.ru)

**Конфликт интересов:** автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 04.05.2025

Принята к печати 28.11.2025