

УДК 615.322+582.736

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2025.3.24 EDN: OKGOZI

ИССЛЕДОВАНИЕ УСЛОВИЙ КАЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ФЛАВОНОИДОВ ТРАВЫ АСТРАГАЛА СОЛОДКОЛИСТНОГО (ASTRAGALUS GLYCYPHYLLUS L.)**© Позднякова Т.А.***Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева, Россия, 302026, Орел, ул. Комсомольская, 95****Резюме***

Цель. Разработать методику качественного определения суммы флавоноидов в траве астрагала солодколистного (*Astragalus glycyphyllos* L.).

Методика. Объектом исследования служила трава астрагала солодколистного, заготовленная в 2023-2024 гг. на территории Курской и Орловской областей. Установление наличия флавоноидов в исследуемом сырье проводили с помощью общезвестных качественных реакций. Для разделения и идентификации индивидуальных флавоноидов был использован метод тонкослойной хроматографии на пластинах «Сорб菲尔». Опытным путем устанавливали оптимальные условия проведения эксперимента: способ экстракции сырья, выбор хроматографических пластинок, систему растворителей, объем пробы для проведения анализа, вещества-стандарты и проявляющий агент.

Результаты. С помощью качественных реакций в извлечениях из травы астрагала солодколистного было установлено наличие флавоноидов. Экспериментальным путем были определены оптимальные условия качественного анализа флавоноидов в траве исследуемого растения методом тонкослойной хроматографии: хроматографирование проводить восходящим способом, система растворителей хлороформ-спирт 96%-вода (26:16:3), в качестве веществ-свидетелей использовать СО гиперозид и астрагалин ООО «Фитопанацея». После высушивания обработать хроматограмму 5% раствором алюминия хлорида в спирте этиловом и рассматривать в УФ-свете. В результате опыта были обнаружены пять соединений, принадлежащие флавоноидам, в том числе астрагалин и гиперозид. Разработанная методика была валидирована по показателям: специфичность, прецизионность и робастность.

Заключение. Разработана методика качественного определения флавоноидов в траве астрагала солодколистного. Установлены оптимальные условия экстрагирования флавоноидов из сырья и проведения тонкослойной хроматографии. Разработанная методика валидирована по показателям специфичность, прецизионность и робастность. Наличие флавоноидных соединений в исследуемом растении указывает на возможность использования травы астрагала солодколистного в качестве источника природных антиоксидантов.

Ключевые слова: астрагал солодколистный, флавоноиды, качественные реакции, тонкослойная хроматография, валидация методики

STUDY OF CONDITIONS FOR QUALITATIVE ANALYSIS OF FLAVONOIDS OF THE HERB ASTRAGALUS GLYCYPHYLLUS L.**Pozdnyakova T.A.***Orel State University. I.S. Turgenev, 95, Komsomolskaya St, 302026, Orel, Russia****Abstract***

Objective. To develop a method for the qualitative determination of the amount of flavonoids in the herb of *Astragalus glycyphyllos*.

Methods. The object of the study was the herb of *Astragalus glycyphyllos*, harvested in 2023-2024 in the Kursk and Oryol regions. The presence of flavonoids in the studied raw materials was determined using well-known qualitative reactions. For the separation and identification of individual flavonoids, the method of thin-layer chromatography on Sorbfil plates was used. Optimal conditions for the experiment were established empirically: the method of raw material extraction, the choice of chromatographic plates, the solvent system, the sample volume for analysis, standard substances and the developing agent.

Results. Using qualitative reactions in extracts from the herb of *Astragalus glycyphyllo* the presence of flavonoids was established. Optimal conditions for the qualitative analysis of flavonoids in the herb of the studied plant were experimentally determined using thin-layer chromatography: chromatography was performed in an ascending manner, the solvent system was chloroform–alcohol 96%–water (26:16:3), and hyperoside CO and astragalin from Fitopanatseya LLC were used as witness substances. After drying, the chromatogram was treated with a 5% solution of aluminum chloride in ethyl alcohol and examined in UV light. As a result of the experiment, five compounds belonging to flavonoids were detected, including astragalin and hyperoside. The developed technique was validated for: specificity, precision and robustness.

Conclusions. A method for the qualitative determination of flavonoids in the herb of *Astragalus glycyphyllo* has been developed. Optimal conditions for extracting flavonoids from raw materials and performing thin-layer chromatography have been established. The developed method has been validated for specificity, precision, and robustness. The presence of flavonoid compounds in the plant under study indicates the possibility of using the herb of *Astragalus glycyphyllo* as a source of natural antioxidants.

Keywords: *Astragalus glycyphyllo* L., flavonoids, qualitative reactions, thin layer chromatography, method validation

Введение

В настоящее время во всем мире наблюдается рост заболеваний, связанных с ухудшением экологической обстановки, в том числе, с увеличением ионизирующего излучения. Повышенный радиоактивный фон негативно действует на живые организмы и может спровоцировать развитие патологий кровеносной системы, поражения кожи, глаз, нарушения формирования и развития плода, различные онкологические заболевания. Перекисное окисление липидов, что чревато развитием хронического панкреатита [2]. Однако природа, как заботливая мать, дарит людям биологически активные соединения, способные защитить нас от вредоносных факторов. Некоторые вещества, содержащиеся в растениях, способны нейтрализовать свободные радикалы, остановить перекисное окисление липидов и защитить клетки от повреждений. Многочисленными исследованиями отечественных и зарубежных ученых доказано, что таким действием обладают фенольные соединения, в частности, флавоноиды. Благодаря высокому окислительно-восстановительному потенциалу эти вещества проявляют антиоксидантную активность, первыми вступают в реакции со свободными радикалами, образующимися в процессе жизнедеятельности организма, и переводят их в неактивные соединения [12, 13, 16]. Вследствие мембраностабилизирующего действия на клетки флавоноиды замедляют их старение, оптимизируют обменные процессы в организме, укрепляют иммунную систему, повышают резистентность к воздействию неблагоприятных факторов. Благодаря такому комплексному воздействию на клетки и ткани природные антиоксиданты снижают риск развития патологий сердечно-сосудистой, нервной системы, печени и даже онкологических заболеваний [14, 15]. Источником природных антиоксидантов служат растения, в частности, многие представители многочисленного рода Астрагал (*Astragalus*) содержат флавоноиды [5, 7]. Тем более, что опыт народной медицины свидетельствует об эффективности применения различных видов астрагала в качестве противовоспалительных, мочегонных, гастропротекторных и гиполипидемических средств при заболеваниях сердечно-сосудистой системы, верхних дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта [1, 3, 9, 10]. При всем многообразии рода астрагал не все его представители могут быть использованы с целью промышленной заготовки лекарственного растительного сырья, поскольку многие виды имеют небольшой ареал произрастания и, как следствие, ограниченную сырьевую базу [5, 7]. На территории Центрального федерального округа достаточно широко распространен астрагал солодколистный (*Astragalus glycyphyllo* L.), который может служить источником для получения флавоноидов.

Целью работы явилась разработка методики качественного определения суммы флавоноидов в траве астрагала солодколистного.

Методика

Для проведения исследования в летний период 2023-2024 гг. на территории Курской и Орловской областей была заготовлена трава астрагала солодколистного. Сырея заготавливали самостоятельно

в фазу массового цветения растения. Высушеннюю естественным путем траву измельчали и использовали для проведения исследований.

В частные фармакопейные статьи на лекарственное растительное сырье обязательно включен раздел «Определение основных групп биологически активных веществ», где приводятся качественные реакции и хроматографические методы анализа для идентификации основных биологически активных соединений [6]. Установление наличия флавоноидов в исследуемом сырье проводили в водном остатке спирто-водного извлечения из травы астрагала солодколистного, а также фракциях, полученных с помощью органических растворителей (этилацетат и бутанол), с помощью общеизвестных качественных реакций: цианидиновой (с кислотой хлористоводородной концентрированной и магниевой стружкой), цианидиновой по Брианту, со спиртовым раствором алюминия хлорида 2%, с раствором натрия гидроксида 10%, с реактивом Вильсона, с раствором ацетата свинца основным, с раствором хлорида железа (III), реакции азосочетания [8, 11].

Для разделения и идентификации индивидуальных флавоноидов был использован метод тонкослойной хроматографии на пластинах «Сорб菲尔».

Опытным путем выясняли оптимальные условия проведения эксперимента: способ экстракции сырья, выбор хроматографических пластинок, систему растворителей, объем пробы для проведения анализа, вещества-стандарты и проявляющий агент.

Для выбора способа экстракции изучили соотношения сырья к экстрагенту и природу экстрагента в фармакопейных методиках на другие виды растительного сырья, содержащего флавоноиды [6]. Таким образом, экстракция травы астрагала солодколистного была проведена пятью способами: способ 1 – 1,0 г сырья и 10 мл 96% спирта этилового (1:10), экстракция 10 минут; способ 2 – 1,0 г сырья и 30 мл 90% спирта этилового (1:30), экстракция 30 минут; способ 3 – 1,0 г сырья и 50 мл 70% спирта этилового (1:50), экстракция 60 минут; способ 4 – 1,0 г сырья и 10 мл 70% спирта этилового (1:10), экстракция 30 минут; способ 5 – 1,0 г сырья и 100 мл 70% спирта этилового (1:100), экстракция 60 минут.

Аналогичным путем были выбраны системы растворителей, для чего изначально использовали следующие смеси: хлороформ – спирт этиловый 96% – вода (26:16:3); муравьиная кислота безводная – вода – этилацетат (2:3:10); уксусная кислота – вода – бутанол (1:2:4); этилацетат – толуол – уксусная кислота ледяная (25:70:5); этилацетат – кислота уксусная безводная – вода (65:15:20). Анализ проводили на хроматографических пластинах марки «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» на алюминиевой и полимерной основе.

В качестве веществ-свидетелей были выбраны флавоноиды, которые, как показывает анализ литературных данных, чаще всего встречаются в растениях рода Астрагал – гиперозид и астрагалин.

Полученные извлечения наносили на хроматографическую пластинку с использованием микропипетки в объемах 10, 20, 30 и 40 мкл. Стандарты наносили в объеме 10 мкл. После извлечения хроматографической пластины из камеры и высушивания отмечали пятна флавоноидов на хроматограммах в УФ-свете, затем обрабатывали специфическими проявляющими реактивами (пары аммиака, спиртовый раствор алюминия хлорида 2%, метанольный раствор циркония хлорокиси 2%) и далее снова рассматривали в УФ-свете. Критерием выбора того или иного условия проведения опыта было полное разделение на хроматограмме зон флавоноидов и визуальное обнаружение на пластиинке флуоресцирующих ярких пятен. Каждое исследование было повторено 5 раз.

Результаты исследования и их обсуждение

С помощью качественных реакций в извлечениях из травы астрагала солодколистного было установлено наличие флавоноидов, причем их результаты указывают на наличие в изучаемом растении как флавоидных гликозидов, так и агликонов. Экспериментальным путем были определены оптимальные условия качественного анализа флавоноидов в траве исследуемого растения методом тонкослойной хроматографии. 1,0 г сырья залить 100 мл 70% спирта этилового и экстрагировать на водяной бане 60 минут, после очистки раствора нанести на пластинку «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» с алюминиевой основой 10 мкл извлечения. Хроматографирование проводить восходящим способом, поместив пластинку в насыщенную камеру с системой растворителей хлороформ-спирт 96%-вода (26:16:3), в качестве веществ-свидетелей использовать СО гиперозид и астрагалин ООО «Фитопанацея». После высушивания обработать хроматограмму 5% раствором алюминия хлорида в спирте этиловом и рассматривать в УФ-свете.

В результате опыта при параллельном нанесении стандартных образцов астрагалина и гиперозида были обнаружены пять соединений, принадлежащие флавоноидам, в том числе астрагалин и гиперозид (рис.).

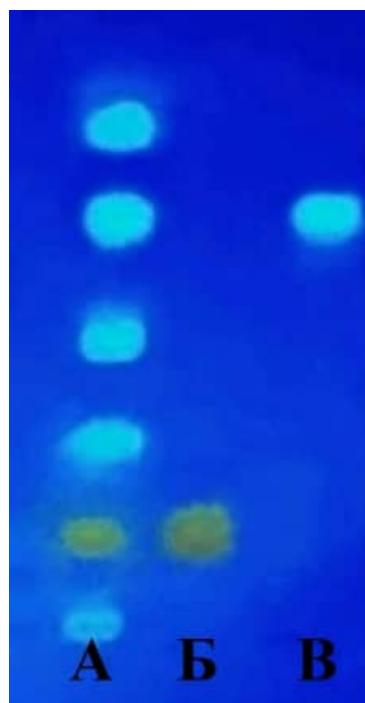


Рис. Схема хроматограммы качественного анализа флавоноидов в траве астрагала солодколистного в системе хлороформ – спирт 96% – вода (26:16:3). А – спирто-водное извлечение астрагала солодколистного, Б – гиперозид, В – астрагалин

В рамках валидации разработанной методики оценивали специфичность, прецизионность и робастность.

Определение специфичности методики осуществляли путем сравнения хроматографических данных зон флавоноидов в анализируемом растворе с зонами стандартных образцов. Было установлено, что видимые пятна веществ-свидетелей и соответствующие пятна извлечения характеризуются идентичными расположением на хроматограмме и цветом – гиперозид имеет желто-оранжевое свечение, астрагалин – желто-зеленое. Таким образом, взятые для опыта вещества-свидетели могут быть использованы для идентификации флавоноидов в траве астрагала солодколистного.

Прецизионность оценивали путем повторяемости полученных результатов при проведении опыта одним исследователем с использованием одного оборудования и реагентов. Таким образом, по результатам трех опытов были получены абсолютно идентичные результаты – обнаружено 5 зон флуоресценции с идентификацией гиперозида и астрагалина. Также изучили внутрилабораторную прецизионность при проведении опыта двумя аналитиками с использованием пластинок разной серии, индивидуальным изготовлением реагентов и проведением эксперимента в разные дни. Таким образом выяснили, что хроматографические профили независимых испытаний схожи по степени окраски, расположению и размеру зон.

Робастность методики оценивали по влиянию на ход эксперимента насыщенности хроматографической камеры парами растворителя. Хроматограмму помещали в ненасыщенную камеру, также спустя 30, 45 и 60 мин. после внесения системы растворителей. Было выяснено, что после предварительного насыщения хроматографической камеры парами растворителя наблюдается четкое разделение флуоресцирующих зон на пластинке, при этом время насыщения на ход эксперимента не оказывает влияния.

Таким образом, результаты валидации позволяют сделать вывод, что разработанная методика пригодна для качественного анализа флавоноидов в траве астрагала солодколистного.

Заключение

На основе требований Государственной Фармакопеи 15 издания разработана методика качественного определения флавоноидов в траве астрагала солодколистного. Установлены оптимальные условия экстрагирования флавоноидов из сырья и проведения тонкослойной хроматографии. Разработанная методика валидирована по показателям: специфичность, прецизионность и робастность. Наличие флавоноидных соединений в исследуемом растении указывает на возможность использования травы астрагала солодколистного в качестве источника природных антиоксидантов.

Литература (references)

1. Азатян С.Г., Мажитова М.В. Перспективы применения экстракта растений рода *Astragalus* при сердечно-сосудистых патологиях // Прикаспийский вестник медицины и фармации. – 2022. – Т.3, №1. – С. 6-14. [Azatyan S.G., Mazhitova M.V. *Prikaspisjiskij vestnik mediciny i farmacii. Caspian Bulletin of Medicine and Pharmacy.* – 2022. – V.3, N1. – C. 6-14. (in Russian)]
2. Акуленок Е.В., Иванишкина Е.В., Нанкевич И.Н., Аббасов Р.Р. Роль процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантного статуса в патогенезе хронического панкреатита // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2024. Т.23, №1. – С. 203-208. [Akulenok E.V., Ivanishkina E.V., Nankevich I.N., Abbasov R.R. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoy akademii. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy.* – 2024. – V.23, N1. – C. 203-208. (in Russian)]
3. Березуцкий М.А., Дурнова Н.А., Матвиенко У.А. Нейробиологические эффекты химических соединений видов рода *Astragalus* L. и перспективы их применения в медицине (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2023. – Т.12, №1. – С. 199-206. [Berezutskiy M.A., Durnova N.A., Matvienko U.A. *Razrabotka i registracija lekarstvennyh sredstv. Development and registration of drugs.* – 2023. – V.12, N1. – C. 199-206. (In Russian)]
4. Бизиков П.А. Тонкослойная хроматография (TCX) как метод определения флавоноида кверцетина в лекарственных растениях: цветках лабазника вязолистного, листьях костянки каменистой, траве астрагала перепончатого, траве астрагала датского // Актуальные вопросы современной медицины: Материалы 86 Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием. – Иркутск, 2019 – С. 463. [Bizikov P.A. *Aktual'nye voprosy sovremennoj mediciny: Materialy 86 Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferencii molodyh uchenyh i studentov s mezhdunarodnym uchastiem. Current issues of modern medicine: Materials of the 86th All-Russian Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Students with International Participation.* – Irkutsk, 2019 – P. 463. (in Russian)]
5. Буданцев А.Л. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т.3. Семейства Fabaceae-Apiaceae. – СПб. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. – 601 с. [Budancev A.L. *Rastitel'nye resursy Rossii: Dikorastushchie cvetkovye rasteniya, ih komponentnyj sostav i biologicheskaya aktivnost'.* Т.3. *Semejstva Fabaceae-Apiaceae. Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity.* V.3. Fabaceae-Apiaceae families. – SPb. M.: Tovarishchestvo nauchnyh izdanij KMK, 2010. – 601 p. (in Russian)]
6. Государственная фармакопея 15 издание. Электронное издание. – 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> [Gosudarstvennaya farmakopeya 15 izdanie. State Pharmacopoeia 15th edition. Helektronnoe izdanie. – 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (in Russian)]
7. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. 10-е изд. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2006. – 330 с. [Maevskij P.F. *Flora srednej polosy evropejskoj chasti Rossii. 10-e izd.* Flora of the middle zone of the European part of Russia. 10th ed. – M.: Tovarishchestvo nauchnyh izdanij KMK, 2006. – 330 p. (in Russian)]
8. Позднякова Т.А., Бубенчиков Р.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве астрагала шерстистоцветкового (*Astragalus dasyanthus* L.) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018. – Т.21, №6. – С. 10-15. [Pozdnyakova T.A., Bubenchikov R.A. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoy i farmacevticheskoy himii. Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry.* – 2018. – V.21, N6. – P. 10-15. (in Russian)]
9. Рабинович А.М., Рабинович С.А., Солдатова Е.И. Целебные растения России с давних времен (иллюстрированная энциклопедия). – М.: Арнебия, 2012. – 654 с. [Rabinovich A.M., Rabinovich S.A., Soldatova E.I. *Celebnye rastenija Rossii s davnih vremen (illjustrirovannaja jenciklopedija).* Healing plants of Russia since ancient times (illustrated encyclopedia). – M.: Arnebija, 2012. – 654 p. (in Russian)]

10. Сергалиева М.У., Мажитова М.В., Самотруева М.А. Растения рода астрагал: перспективы применения в фармации // Астраханский медицинский журнал. – 2015. – Т.10, №2. – С. 17-31. [Sergalieva M.U., Mazhitova M.V., Samottrueva M.A. *Astrahanskij medicinskij zhurnal*. Astrakhan Medical Journal. – 2015. – V.10, N2. – P. 17-31. (in Russian)]
11. Шаталова Т.А., Семенова Н.Н., Дуккардт Л.Н., Мичник Л.А., Крикова А.В. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в гранулах ноотропного действия, содержащих полиэкстракт альфредии поникшей (Alfredia Cernua L.) // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2024. Т.23, №4. – С. 186-197. [Shatalova T.A., Semenova N.N., Dukkardt L.N., Michnik L.A., Krikova A.V. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoj medicinskoy akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2024. – V.23, N4. – C. 186-197. (in Russian)]
12. Jae C.L., Moo H.W. Neuroprotection of antioxidant enzymes against transient global cerebral ischemia in gerbils // Anatomy and Cell Biology. – 2014. – N47. – P. 149-156.
13. Miao M., Chen X., Wu Zh. et al. Extraction, composition and antioxidant activity of flavonoids from xanthoceras sorbifolium Bunge leaves // Journal of AOAC International. – 2023. – V.106, N3. – P. 769-777.
14. Sachin Kumar Evaluation and Comparison of Total Phenolics, Total Flavonoids and Antioxidant Activity of A. Mexicana Aerial Parts in Different Solvents // Journal of Antioxidant Activity. – 2023. – V.2, N4. – P. 22-30.
15. Shen C. Y., Jiang J. G., Yang L. et al. Anti-ageing active ingredients from herbs and nutraceuticals used in traditional Chinese medicine: pharmacological mechanisms and implications for drug discovery // Brit. J. Pharmacol. – 2017. – V.174, N11. – P. 1395-1425.
16. Zai Y., Liu S. Extraction, antioxidant activity and identification of flavonoids from root tubers of kosteletzkya virginica // Phyton-Int J Exp Bot. – 2023. – V.92, N1. – P. 225-236.

Информация об авторе

Позднякова Татьяна Александровна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и фармации ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева». E-mail: pozdnyakova.tatyana.72@mail.ru

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 11.02.2025

Принята к печати 25.09.2025