

УДК: 615.322:582.998.14

**РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ КУЛЬБАБЫ ОСЕННЕЙ
(LEONTODON AUTUMNALIS L.)***Р.А. Бубенчиков, Н.Н. Гончаров**Курский государственный медицинский университет, г. Курск***WORKING OUT AND VALIDATION OF THE METHOD OF QUANTITATIVE
DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN THE HERB OF LEONTODON AUTUMNALIS L.***R.A. Bubenchikov, N.N. Goncharov**Kursk State Medical University, Kursk
E-mail: bubenchikova.ksmu@yandex.ru*

В ходе проведения исследования была разработана методика дифференциального спектрофотометрического определения флавоноидов в сырье кульбабы осенней, после образования окрашенного комплекса с раствором алюминия хлорида. Установлены оптимальные условия комплексообразования и экстракции флавоноидов из исследуемого растительного сырья. Установлено, что наиболее полное извлечение флавоноидов достигается при степени измельчения 1 мм, экстракцией спиртом этиловым 70% в течение 45 минут. Максимальное значение оптической плотности достигается через 30 минут после добавления 2 мл раствора алюминия хлорида 2%.

Ключевые слова: дифференциальная спектрофотометрия, флавоноиды, кульбаба осенняя.

Кульбаба осенняя (*Leontodon autumnalis* L.) относящаяся к семейству астровые (*Asteraceae*) широко применяется в народной медицине в качестве противокашлевого средства на Кавказе и Карелии, при заболеваниях органов пищеварительного тракта на территории Украинского и Белорусского полесья. Так же в народной медицине существуют рекомендации по купанию младенцев в отваре кульбабы осенней, когда они кричат и плохо засыпают.

In the course of the study we have worked out the methodology of differential spectrophotometric determination of flavonoids in raw *Leontodon autumnalis* L. after the formation of a colored complex with a solution of aluminum chloride. We have established optimal conditions for complexation and extraction of flavonoids from plant raw materials under study. We have established that the most complete extraction of flavonoids is achieved with fineness of 1 mm by extraction with ethyl alcohol of 70% for 45 minutes. The maximum value of the optical density is achieved 30 minutes after addition of 2 ml of a solution of aluminum chloride 2%.

Keywords: differential spectrophotometry, flavonoids, *Leontodon autumnalis* L.

Leontodon autumnalis L. from *Asteraceae* family is broadly used in folk medicine as antitussive agent in the Caucasus and Karelia, for treatment of digestive organs diseases in Ukrainian and Belarus Polesye. There are also recommendations in folk medicine for newborn children bathe in decoction of *Leontodon autumnalis* L. when they cry or do not sleep.

Previously we have established that the herb of *Leontodon autumnalis* L. contains fla-

Ранее было установлено, что трава кульбабы осенней содержит флавоноиды, которые представлены агликонами лютеолином и апигенином, и их гликозидами. Флавоноиды проявляют широкий спектр фармакологической активности. Флавоноиды и препараты на их основе оказывают противовоспалительное, антиоксидантное, диуретическое, иммуномодулирующее, антидиабетическое и другие виды действия [3,5]. Обширное применение флавоноидов в медицинской практике создает необходимость разработки и совершенствования методов их анализа.

Цель работы – разработка методики количественного определения флавоноидов в траве кульбабы осенней и ее валидация.

Объектом исследования служила трава кульбабы осенней, заготовленная на территории Курской, Белгородской и Воронежской областей в 2013-2014 годах, в период массового цветения растений.

Наиболее распространенным методом количественного определения флавоноидов является дифференциальная спектрофотометрия определения в видимой области спектра [1, 4]. Для количественного определения суммы флавоноидов в сырье кульбабы осенней нами была предложена методика спектрофотометрического определения, после предварительного проведения реакции комплексообразования с раствором алюминия хлорида на спектрофотометре СФ-2000.

При выборе стандарта для расчета содержания суммы флавоноидов были измерены спектры поглощения спиртового извлечения из сырья кульбабы осенней с алюминия хлоридом и цинарозида с алюминия хлоридом. Полученные спектры совпадали и максимум поглощения находился при длине волны 395 нм. При этом, также изучены такие стадии, как экстрагирование флавоноидов и условия комплексообразования с раствором алюминия хлорида. Разработка методики количественного определения предусматривает проведение валидации.

Таким образом, в качестве стандартного вещества для расчета суммы флавоноидов нами предложен 7-гликозид лютеолина – цинарозид (стандартный образец фирмы

vonoids, which are represented by aglycones, luteolin, and apigenin and their glycosides. Flavonoids exhibit a wide spectrum of pharmacological activity. Flavonoids and drugs on their basis have anti-inflammatory, antioxidant, diuretic, anti-diabetic, and other types of action [3, 5]. Wide application of flavonoids in medicinal practice creates the necessity of working out and improvement of their analysis methods.

The purpose of the works is to work out a methodology of a quantitative determination of flavonoids in the herb of *Leontodon autumnalis* L., and its validation.

The herb of *Leontodon autumnalis* L. stocked up in Kursk, Belgorod, and Voronezh Oblasts in 2013-2014 in a mass bloom was the object of the study.

The most widespread method of quantitative determination of flavonoids is differential spectrophotometry of determination in a visible spectrum [1, 4]. We have suggested a method of spectrophotometry determination for the quantitative determination of flavonoids sum in raw materials of *Leontodon autumnalis* L. after preliminary conduction of reaction of complexation with solution of aluminum chloride in SF-2000 spectrophotometer.

While choosing for a standard for the calculation of flavonoids sum we have measured spectrums of adsorption of an alcohol extract from the raw materials of *Leontodon autumnalis* L. with aluminum chloride and cynaroside with aluminum chloride. The obtained spectrums coincided, and maximum adsorption was at the wavelength 395 nm. With that we have studied the stages like extraction of flavonoids, and complexation conditions with aluminum chloride solution. The working out of quantitative determination provides the validation.

Thus we have offered a cynaroside (standard sample of Fitopanacea CAS no. 5373-11-5) – 7-glycoside of luteolin for a standard substance for the calculation of flavonoids sum. While es-

Fitopanacea CAS №5373-11-5). При установлении количественного содержания флавоноидов в траве кульбабы осенней нами изучены и выявлены оптимальные условия анализа: степень измельченности сырья, время экстракции, тип экстрагента, объем и концентрация раствора алюминия хлорида (табл. 1) [2].

establishing the quantitative content of flavonoids in the grass of *Leontodon autumnalis* L. we have studied and revealed optimal conditions for the analysis: raw materials fineness factor, extraction time, extracting agent type, volume, and concentration of aluminum chloride solution (table 1) [2].

Таблица 1 – Влияние условий экстракции и комплексообразования на содержание флавоноидов в траве кульбабы осенней
Table 1 – Influence of the extraction conditions and complexation on the flavonoid content in the grass of *Leontodon autumnalis* L.

Условия экстракции / Extraction conditions	Содержание флавоноидов в % / Flavonoids content, %
1	2
Время экстракции, мин / Extraction time, min	
30	0.55±0.02
45	0.63±0.02
60	0.66±0.02
75	0.64±0.02
Степень измельчения, мм / Fineness degree, mm	
0.5	0.50±0.02
1.0	0.64±0.02
2.0	0.45±0.01
3.0	0.35±0.01
Концентрация спирта этилового, % / Ethanol concentration, %	
30	0.52±0.02
50	0.57±0.02
70	0.63±0.02
96	0.46±0.01
Условия комплексообразования / Complexation conditions	Содержание флавоноидов в % / Flavonoids content, %
Концентрация алюминия хлорида, % / Aluminum chloride concentration, %	
1	0.55±0.02
2	0.62±0.02
3	0.63±0.02
Количество алюминия хлорида 2%, мл / 2% aluminum chloride quantity, ml	
1	0.57±0.02
2	0.62±0.02
3	0.63±0.02
Время устойчивости, мин / Tolerance time, min	Оптическая плотность / Optical density
15	0.7416
30	0.7956
60	0.7917
90	0.7666
120	0.7492

Было установлено, что наиболее полное извлечение флавоноидов из травы кульбабы осенней достигается при экстракции спиртом этиловым 70% в течении 45 минут со степенью измельчения сырья 1,0 мм, экстракция до наступления равновесия. Оптимальные условия комплексообразования: проведение реакции с 2 мл раствора алюминия хлорида 2% в течение 30 минут.

На основании проведенных исследований разработана методика количественного определения флавоноидов в траве кульбабы осенней.

Около 1,0 г (точная навеска) сырья, проходящего сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм, помещают в колбу с притертой пробкой, объемом 250 мл. Сырье заливают 100 мл спирта этилового 70% и взвешивают с погрешностью $\pm 0,01$ г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и помещают на кипящую водяную баню на 45 минут. Колбу время от времени взбалтывают, чтобы смыть частицы сырья со стенок. После чего колбу с извлечением охлаждают под струей проточной воды и взвешивают. При необходимости массу доводят до первоначальной спиртом этиловым 70%. Охлажденное и доведенное до первоначальной массы извлечение фильтруют через бумажный фильтр, при этом отбрасывают первые 10 мл фильтрата, необходимых для смачивания фильтра. Из полученного экстракта берут 10,0 мл фильтрата, которые помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл раствора алюминия хлорида 2%, растворенного в спирте этиловом 70%. Затем, через 10 минут – 2 капли разведенной уксусной кислоты. Спиртом этиловым 70% доводят объем раствора до метки. Еще через 30 минут измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 395 нм в кювете с толщиной рабочего слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий все те же компоненты, что и анализируемый раствор, но без добавления алюминия хлорида.

Содержание суммы флавоноидов в процентной концентрации (X) в пересчете на цинарозид вычисляли по формуле:

We have established that the most complete extract of flavonoids from the grass of *Leontodon autumnalis* L. is achieved with the 75% ethanol extraction within 45 minutes with raw materials fineness factor at 1.0 mm, extraction before the balance. Optimal condition for the complexation is reaction with 2 ml of 2% aluminum chloride within 30 minutes.

Based on the studies conducted we have worked out a method of quantitative determination of flavonoids in the herb of *Leontodon autumnalis* L.

About 1.0 g (precisely weighed quantity) of raw materials which pass through the sieve with holes diameter 1 mm, are placed into a flask with friction lid, with the volume of 250 ml. The raw materials are flooded with 100 ml of 70% ethanol and weighed with ± 0.01 error. The flask is attached to the return condenser and placed on a boiling water bath for 45 minutes. The flask was periodically shaken to wash away the particles of raw materials from the walls. After that, the flask with extract is cooled under the jet of flowing water and is weighed. If necessary the weight is brought to the initial with 70% ethanol.

Cooled and brought to the initial weight extract is filtered through the paper filter rejecting the first 10 ml of filtrate necessary for drenching the filter. 10.0 ml of filtrate are taken from the extract obtained which are placed into a measuring flask with a capacity of 25 ml, added with 2 ml of 2% aluminum chloride solution dissolved in 70% ethanol. And after that in 10 minutes it is added with two drops of dissolved acetic acid. Solution volume is brought to the mark with 70% ethanol. In the next 30 minutes the solution's optical density is measured in a spectrophotometer at the wavelength 395 nm in a ditch with working layer thickness 10 mm.

Solution with the same components as the analyzed solution but without aluminum chloride was used as a comparing solution.

The content of flavonoid sum in percent concentration (X) in terms of cynaroside was calculated following the formula:

$$X = \frac{D * 100 * 25 * 100 *}{E_{1\text{cm}}^{1\%} * V * m * (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность анализируемого раствора при длине волны 395 нм;

V – объем извлечения в мл;

m – масса навески сырья в граммах;

W – влажность сырья, %.

Валидацию разработанной методики количественного определения флавоноидов проводили по показателям: линейности, диапазону использования, повторяемости, воспроизводимости, правильности в соответствии с руководства ИСН «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» [5].

При проверке линейности методики были приготовлены 6 окрашенных растворов комплекса лютеолин-7-глюкозида с алюминия хлоридом различной концентрации, измерены их оптические плотности при длине волны 395 нм и построен график зависимости оптической плотности от концентрации флавоноидов (рис. 1).

$$X = \frac{D * 100 * 25 * 100 *}{E_{1\text{cm}}^{1\%} * V * m * (100 - W)}$$

where D – optic density of the solution under analysis at the wavelength 395 nm;

V – the extract volume, ml;

m – raw materials weighing mass, g;

W – wetness of the raw materials, %.

Validation of the worked out method of quantitative determination of flavonoids was conducted following the indices of linearity, range of use, repetition, reproducibility, correctness in accordance with the ICH recommendations on “Validation of analytic methods. Content and methodology” [5].

When checking the linearity of the method we have prepared 6 colored solutions of luteolin-7-glycoside complex with aluminum glycoside of different concentration, measured their optical densities at the wavelength 395 nm and build a graph of dependence of optical density on the flavonoid concentration (figure 1).

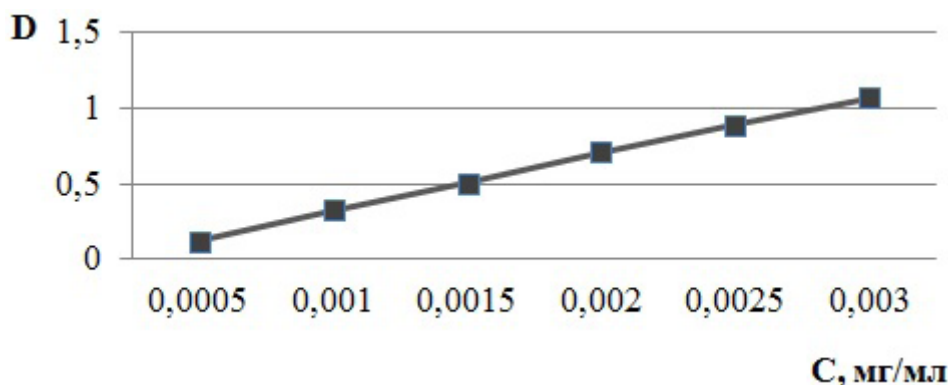


Рисунок 1 – Зависимость оптической плотности растворов цинарозида с алюминия хлоридом от концентрации цинарозида

Figure 1 – Dependence of optical density of solutions of cynaroside with aluminum chloride on the cynaroside concentration

Коэффициент корреляции составил 0,999614, следовательно, данную методику можно использовать для анализа флавоноидов травы кульбабы осенней в пересчете на цинарозид в указанном диапазоне концентраций (табл. 2).

Для проверки диапазона использования методики получали извлечения из травы кульбабы осенней различной концентрации,

Correlation coefficient amounted to 0.999614, therefore this method can be used for the analysis of flavonoids of the herb of *Leontodon autumnalis* L. in terms of cynaroside in a stipulated range of concentrations (table 2).

To check the range of the method application we have obtained extracts from the herb of *Leontodon autumnalis* L. of different concen-

Таблица 2 – Результаты статистической обработки данных, полученных при изучении линейной зависимости вида $y = bx + a$
Table 2 – The results of statistic processing of data obtained while studying the linear dependence of specie $y = bx + a$

F	x	y	b	a	R
4	0.00175	0.603017	378.7029	-0.05971	0.999614

для чего получали извлечения из навесок массой 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 (точные навески) и в полученных извлечениях по разработанной методике проводили определение суммы флавоноидов (рис. 2).

For this purpose extracts were obtained from the weighings 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 (precise weighing) and the flavonoids sum determination in these extracts was obtained with the worked out method (figure 2).

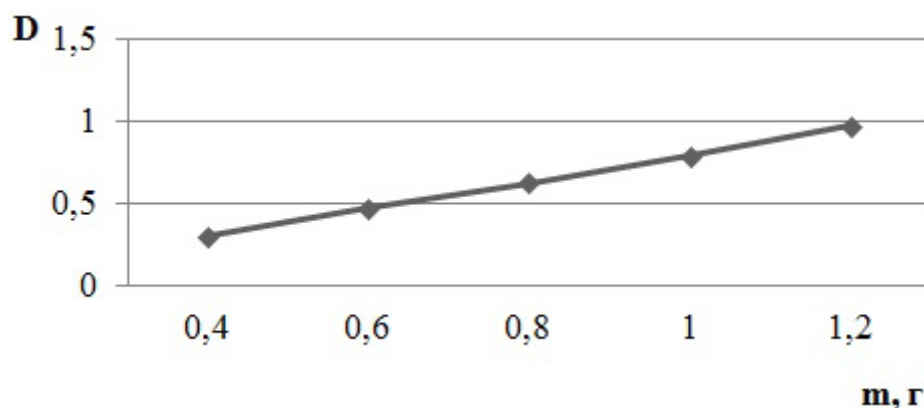


Рисунок 2 – Зависимость оптической плотности извлечений из сырья с алюминия хлоридом от массы навески травы кульбабы осенней

Figure 2 – Dependence of optical density of extracts from the raw materials with aluminum chloride on the weighing mass of the grass of *Leontodon autumnalis L.*

По полученным экспериментальным данным рассчитывали коэффициент корреляции, угловой коэффициент линейной регрессии, свободный член графика (табл. 3).

According to the obtained experimental data we have calculated the correlation coefficient, angle coefficient of linear regression, free term of a graph (table 3).

Таблица 3 – Результаты статистической обработки данных, полученных при изучении линейной зависимости вида $y=bx+a$
Table 3 – Results of statistic processing of data obtained when studying a linear dependence of $y=bx+a$ type.

F	x	y	b	a	R
3	0.8013	0.6049	0.749096	0.004619	0.999954

Коэффициент корреляции составил 0,999954, таким образом, разработанную методику можно использовать для количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид в указанном диапазоне концентраций.

Для подтверждения повторяемости разработанной методики нами анализировался

Correlation coefficient amounted to 0.999954, thus, the worked out method can be used for the quantitative determination of flavonoid sum in terms of cynaroside within a given range of concentrations.

To prove the repetitiveness of the method we analyzed one sample of raw materials of Leont-

один образец сырья кульбабы осенней в шести повторностях. Критерий приемлемости выражался величиной относительного стандартного отклонения, которое не должно превышать 10% (табл. 4).

odon autumnalis L. in six replications. Acceptance criterion was expressed by the value of relative standard deviation, which should not exceed 10% (table 4).

Таблица 4 – Определение повторяемости методики

Table 4 – Determination of the method repetitiveness

№ п/п / No	Содержание суммы флавоноидов / Content of flavonoid sum	Метрологические характеристики / Metrological characteristics
1	0.65	$x_{cp} = 0,64$ $Sx^2 = 0,00014$ $Sx_{cp} = 0,0118$ $\Delta x = 0,03$ $E_{отн} = 4,70$ $x_{cp} \pm \Delta x_{cp} = 0,64 \pm 0,03$
2	0.64	
3	0.64	
4	0.62	
5	0.63	
6	0.65	

Воспроизводимость методики определяли на одном образце сырья в 6 повторностях. Критерий приемлемости выражался величиной относительного стандартного отклонения, которое не должно превышать 15%. Он составил 6,98% (табл. 5).

The reproducibility of the method was determined using one sample of raw materials in 6 replications. The acceptance criterion was expressed by the value of a relative standard deviation, which should not exceed 15%. It amounted to 6.98 (table 5).

Таблица 5 – Определение воспроизводимости методики

Table 5 – Determination of the method reproducibility

Повторность / Repetition	Аналитик / Analyzer	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид в траве кульбабы осенней / Content of flavonoid sum in terms of cynaroside in the herb of Leontodon autumnalis L.		
		Образец №1 / Sample 1	Образец №2 / Sample 2	Образец №3 / Sample 3
1	1	0.66	0.70	0.56
2	1	0.63	0.72	0.54
3	1	0.64	0.74	0.55
4	2	0.64	0.71	0.56
5	2	0.67	0.74	0.57
6	2	0.65	0.69	0.55
Среднее значение / Average value		0.65	0.72	0.56
Относительное стандартное отклонение, (RSD%) / Relative standard deviation, (RSD%)		6.17	6.98	5.41

Правильность методики устанавливали путем измерения количественного содержания флавоноидов в пересчете на цинарозид в извлечениях, полученных путем добавления необходимого количества стандартного

The correctness of the method was established by means of measuring of quantitative content of flavonoids in terms of cynaroside in extracts, obtained by the addition of a standard solution of cynaroside

раствора цинарозида 0,05% – 0,25 мл, 0,5 мл, 0,75 мл к исследуемому извлечению. Критерий приемлемости – средний процент восстановления при использовании растворов заданных концентраций, его средняя величина должна находиться в пределах $100 \pm 5\%$.

В разработанной методике процент восстановления колеблется от 97,12% до 102,69%, его среднее значение составляет 100,17% при относительной ошибке 4,37% (таблица 6).

0.05% – 0.25 ml, 0.5 ml, 0.75 ml to the extract under study. Acceptance criterion is an average percent of recovery with the use of solutions of the targeted concentrations; its average value should be limited by $100 \pm 5\%$.

Recovery percent in the worked out method fluctuates between 97.12% and 102.69%, its average value amounts to 100.17% with a percentage error 4.37% (table 6).

Таблица 6 – Определение правильности методики

Table 6 – Determination of the method correctness

№ п/п / No	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид, мг / Content of flavonoid sum in terms of cynaroside, mg	Добавлено ГСО цинарозида, мг / Standard cynaroside added, mg	Ожидаемое содержание, мг / Content expected, mg	Полученное содержание, мг / Content obtained, mg	Значение выхода, % / Efficiency value, %	Статистические характеристики / Statistic characteristics
1	0.64	0.125	0.765	0.743	97.12	$X_{cp} = 100.17$ $S^2 = 3.58749$ $S = 1.89407$ $\Delta X = 4.38$ $E_{отн} = 4.37$
2	0.64	0.125	0.765	0.768	100.39	
3	0.64	0.125	0.765	0.752	98.30	
4	0.64	0.250	0.890	0.885	99.44	
5	0.64	0.250	0.890	0.910	102.25	
6	0.64	0.250	0.890	0.912	102.47	
7	0.64	0.375	1.015	1.022	100.69	
8	0.64	0.375	1.015	1.036	102.07	
9	0.64	0.375	1.015	1.003	98.82	
Среднее значение выхода / Average value of efficiency 100.17%						

По разработанной методике было установлено содержание флавоноидов в траве кульбабы осенней, заготовленной в различных местах произрастания (таблица 7).

Анализируя данные таблицы 7, можно отметить, что в траве кульбабы осенней содержание флавоноидов колеблется от 0,55% до 0,71.

Following the worked out method we have established a content of flavonoids in the herb of *Leontodon autumnalis* L., stored up in different habitats (table 7).

Analyzing the data from the table, we should note that the quantity of flavonoids in the herb of *Leontodon autumnalis* L. fluctuates between 0.55% and 0.71%.

Таблица 7 – Содержание суммы флавоноидов в траве кульбабы осенней

Table 7 – Content of the flavonoid sum in the herb of *Leontodon autumnalis* L.

Место сбора сырья / Place of raw materials gathering	Метрологическая характеристика методики / Metrological characteristics of the method				
	X, %	S ²	S	ΔX	E _{отн} , %
Курская обл., г. Курск 2013 г. / Kursk Oblast, Kursk, 2013	0.55	0.00007	0.0084	0.02	3.64
Белгородская обл. окрестности г. Белгорода 2013 г. / Belgorod Oblast, outskirts of Belgorod, 2013	0.71	0.00013	0.0114	0.03	4.23
Воронежская обл. окрестности г. Воронежа 2014 г. / Voronezh Oblast, outskirts of Voronezh, 2014	0.66	0.00013	0.0114	0.03	4.55

Выводы

1. Нами впервые разработана методика спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в траве кульбабы осенней. Содержание флавоноидов в сырье кульбабы осенней колеблется от 0,55% до 0,71%.
2. Проведена валидация разработанной методики по показателям линейности, диапазону использования, повторяемости, воспроизводимости и правильности.

Библиографический список

3. Бубенчикова, В.Н. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве чабреца / В.Н. Бубенчикова, Ю.А. Старчак // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2012. – №22 (141), вып. 20/1. – С. 157-160.
4. Государственная фармакопея СССР. – Вып. 2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР, – 11-е изд., доп. – М.: Медицина 1990. – 400 с.
5. Селимов, М.А. Биологические и антиоксидантные свойства флавоноидов / М.А. Селимов, И.В. Климанович // Вестник молодого ученого. – 2012. – №2. – С. 38-41.
6. Склиаревская, Н.В. Определение суммарного содержания флавоноидов в наземной части *Potentilla argenteae* (Rosaceae) спектрофотометрическим методом / Н.В. Склиаревская, К.В. Попова // Растительные ресурсы. – 2013. – Т. 49, вып. 2. – С. 287-292.
7. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids / H.K. Sandhar, B. Kumar, S. Prasher et al. // Int. Pharm. Sci. – 2011. – Vol. 1, Is. 1. – P. 25-41.

Conclusions

1. For the first time we have worked out the method of spectrophotometric determination of the flavonoid sum in the herb of *Leontodon autumnalis* L. Content of flavonoids in the raw materials of *Leontodon autumnalis* L. fluctuates between 0.55% and 0.71%.
2. We have conducted the validation of the worked out method by the indices of linearity, range of application, repetition, reproducibility, and correctness.

References

1. Bubenchikova V.N., Starchak Iu.A. Validatsiia metodiki kolichestvennogo opredeleniia summy flavonoidov v trave chabretsa [Validation of method of quantitative determination of flavonoid sum in the herb of thyme]. Nauchnye vedomosti, Belgorodskii gosudarstvennyi universitet [Scientific Journal, Belgorod State University], 2012, no. 22 (141), vol 20/1, pp. 157-160.
2. Gosudarstvennaia farmakopeia SSSR: Vyp. 2. Obshchie metody analiza. Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e. [Stat Pharmacopoeia of the USSR: vol. 2, General methods of analysis. Medicinal plants raw materials], MZ SSSR, 11th edition, updated and revised, Moscow, Meditsina [Medicine], 1990, p. 400.
3. Selimov M.A., Klimanovich I.V. Biologicheskie i antioksidantnye svoistva flavonoidov [Biological and antioxidant properties of flavonoids]. Vestnik molodogo uchenogo [The Journal of the young scientist], 2012, no. 2, pp. 38-41.
4. Skliarevskaiia N.V., Popova K.V. Opredelenie summarnogo sodержaniia flavonoidov v nazemnoi chasti *Potentilla argenteae* (Rosaceae) spektrofotometricheskim metodom [Determination of a sum content of flavonoids in aboveground part of *Potentilla argenteae* (Rosaceae) by using a method of spectrophotometry]. Rastitel'nye resursy [Plant resources], 2013, vol. 49, no. 2, pp. 287-292.
5. Sandhar H.K., Kumar B., Prasher S. et al. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. Int. Pharm. Sci., 2011, vol. 1, is. 1, pp. 25-41.

* * *

* * *

Бубенчиков Роман Александрович – доктор фармацевтических наук, ассистент кафедры фармакогнозии и ботаники Курского государственного медицинского университета. Область научных интересов: фитохимическое изучение растений флоры Центрального Черноземья и стандартизация сырья. E-mail: bubenchikova.ksmu@yandex.ru

Гончаров Николай Николаевич – аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники Курского государственного медицинского университета. Область научных интересов: фармакогностическое изучение растений рода кульбаба. E-mail: goncharovxl@gmail.com

Bubenchikov Roman Aleksandrovich – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Assistant of the Chair of Pharmacognosy and Botany at Kursk State Medical University. Area of expertise: phytochemical study of Central Black Earth Region flora and raw materials standardization. E-mail: bubenchikova.ksmu@yandex.ru

Goncharov Nikolay Nikolayevich – post-graduate student of the Chair of Pharmacognosy and Botany at Kursk State Medical University. Area of expertise: pharmacological study of the plant from Leontodon genus. E-mail: goncharovxl@gmail.com