

РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛИСТЬЕВ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ

А.Д. Серебрякова, В.А. Куркин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара

Для цитирования: Серебрякова А.Д., Куркин В.А. Разработка подходов к стандартизации листьев сирени обыкновенной // Аспирантский вестник Поволжья. – 2020. – № 1–2. – С. 158–163. <https://doi.org/10.17816/2072-2354.2020.20.1.158-163>

Поступила: 19.12.2019

Одобрена: 27.01.2020

Принята: 16.03.2020

▪ Работа посвящена вопросам фитохимического изучения листьев сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.) в качестве перспективного вида сырья, содержащего флавоноиды. В результате исследования были определены оптимальные условия экстракции флавоноидов в листьях сирени обыкновенной: экстрагент — 70 % этиловый спирт; соотношение «сырье – экстрагент» — 1 : 50; время экстракции — 45 мин; степень измельчения — 1 мм. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием государственного стандартного образца рутина при длине волны 412 нм. Содержание суммы флавоноидов для листьев сирени обыкновенной варьирует от 2,76 до 3,89 % (в пересчете на рутин). Ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95 % составляет ±6,12 %.

▪ **Ключевые слова:** сирень обыкновенная (*Syringa vulgaris* L.); листья; флавоноиды; рутин; стандартизация; спектрофотометрия.

THE DEVELOPMENT OF APPROACHES TO THE STANDARDIZATION OF THE *SYRINGA VULGARIS* LEAVES

A.D. Serebryakova, V.A. Kurkin

Samara State Medical University, Samara, Russia

For citation: Serebryakova AD, Kurkin VA. The development of approaches to the standardization of the *Syringa vulgaris* leaves. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2020;(1-2):158-163. <https://doi.org/10.17816/2072-2354.2020.20.1.158-163>

Received: 19.12.2019

Revised: 27.01.2020

Accepted: 16.03.2020

▪ The article studies the problems of phytochemical research of *Syringa vulgaris* L. leaves, which are a perspective raw material containing flavonoids. As a result of the study, the optimal conditions for the extraction of flavonoids in the leaves of *Syringa vulgaris* were determined: 70% ethanol was used as an extragent; the ratio “raw material – extragent” was 1 : 50; extraction time was 45 min; the degree of fineness was 1 mm. The method of quantitative determination of the total flavonoids in the leaves of *Syringa vulgaris* by means of differential spectrophotometry with the use of state standard sample of rutin at a wave length of 412 nm was developed. The content of the total flavonoids for *Syringa vulgaris* leaves varies from 2,76% to 3,89% (calculated with reference to rutin). The error of a single determination with a 95% confidence probability is 6,12%.

▪ **Keywords:** *Syringa vulgaris* L.; leaves; flavonoids; rutin; standardization; spectrophotometry.

Введение

Сирень обыкновенная (*Syringa vulgaris* L.) является одним из лекарственных видов растений, не включенных в Государственную фармакопею Российской Федерации XIV издания: в качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС) зарегистрирована кора (ВФС 42-2106-92). Препараты на основе коры сирени обладают широким спектром

фармакологической активности: иммуномодулирующим, адаптогенным, анксиолитическим и антидепрессивным действием. Кора сирени обыкновенной является источником получения ГСО сирингина (ВФС 42-2088-92 «Сирингин-стандартный образец»), который находит применение в стандартизации сырья и препаратов элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus* Rupr. et Maxim) — элеутерозид В [3–5]. Также в коре сирени обык-

новенной были обнаружены и выделены другие фенолпропаноиды (кониферин, актеозид, форзитиазид), фенольные соединения (тирозол, гидрокситирозол, салидрозид) и иридоид (олеуропеин) [3, 5]. Разработаны методики качественного и количественного анализа сырья «Сирени обыкновенной кора» и препаратов «Сирени настойка» и «Сирени сироп» с использованием ГСО сирингина методами тонкослойной хроматографии, прямой спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии [3–7]. На наш взгляд, не менее интересными с точки зрения источника биологически активных соединений (БАС) являются и другие части растения, в том числе листья сирени обыкновенной, в которых среди потенциальных биологически активных соединений являются флавоноиды [8]. Известен опыт народного применения листьев сирени в качестве средства, обладающего противовоспалительными и антибактериальными свойствами, однако в настоящее время степень изученности химического состава данного вида сырья является недостаточной.

С целью введения листьев сирени обыкновенной в Государственную фармакопею Российской Федерации необходимо проведение комплекса фармакогностических исследований, включая разработку нормативной документации, подтверждающей качество ЛРС [2].

Цель настоящего исследования — разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной.

В задачи исследования входило:

- разработка методики количественного анализа суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной;
- определение содержания суммы флавоноидов для изучаемого вида сырья;
- определение нижнего предела содержания действующих веществ для листьев сирени обыкновенной.

Результаты и их обсуждение

Сирень обыкновенная — *Syringa vulgaris* L. — быстро растущее, широко распространенное растение на территории Российской Федерации [5].

Особый интерес, наряду с фармакопейным сырьем — корой, представляя листья данного растения, содержащие флавоноиды. Так, ранее из листьев были выделены производные кверцетина и кемпферола — рутин, изокверцетрин, кверцетрин и афзелин [8].

Объектом исследования служили листья сирени обыкновенной, заготовленные в мае

и октябре 2015–2018 гг. в ботаническом саду Самарского университета, в г. Уральск, г. Тольятти и в Пензенской области.

В ходе разработки методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной изучены ультрафиолетовые (УФ) спектры растворов водно-спиртовых извлечений из данного сырья (рис. 1 и 2). Определено, что в УФ-спектре водно-спиртового извлечения сирени обыкновенной наблюдается батохромный сдвиг длинноволновой полосы флавоноидов (рис. 1), как и в случае рутин (рис. 2). Изучение УФ-спектров Государственного стандартного образца (ГСО) рутин показало, что раствор данного стандарта в присутствии алюминия хлорида имеет максимум поглощения при длине волны 412 нм (рис. 2). В УФ-спектре водно-спиртового извлечения из листьев сирени обыкновенной в дифференциальном варианте максимум поглощения обнаруживается также при длине волны 412 нм максимум поглощения (рис. 3), который соответствует максимуму поглощения раствора рутин.

Таким образом, рутин может быть использован в методике анализа в качестве ГСО.

С целью разработки методики количественного определения суммы флавоноидов нами определены оптимальные условия экстракции флавоноидов в листьях сирени обыкновенной: экстрагент 70 % этиловый спирт; соотношение «сырье – экстрагент» — 1 : 50;

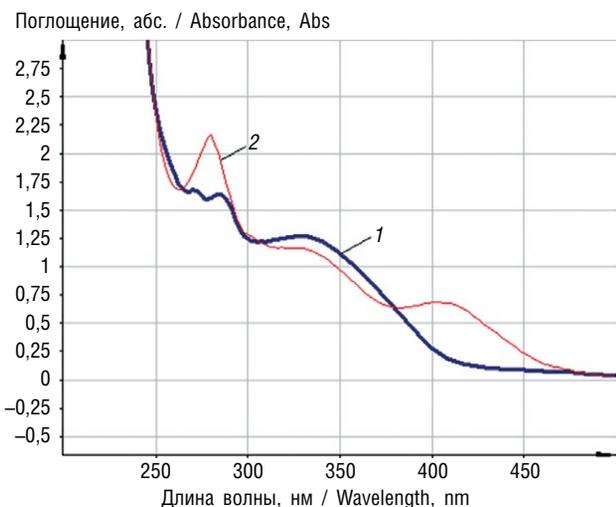


Рис. 1. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из листьев сирени обыкновенной: 1 — раствор извлечения; 2 — раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

Fig. 1. Electronic spectra of solutions of water-alcohol extraction from *Syringa vulgaris* leaves: 1 — solution of extraction; 2 — solution of extraction with aluminium chloride

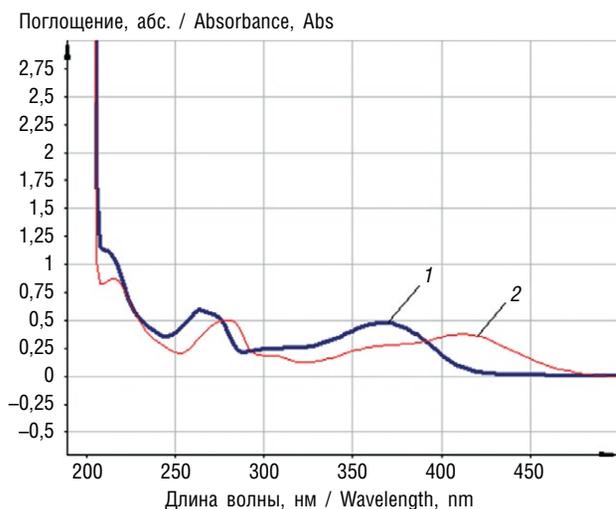


Рис. 2. Электронные спектры спиртовых растворов рутина: 1 — исходный раствор; 2 — раствор с добавлением алюминия хлорида

Fig. 2. Electronic spectra of alcohol solutions of rutin: 1 — original solution; 2 — solution with aluminium chloride

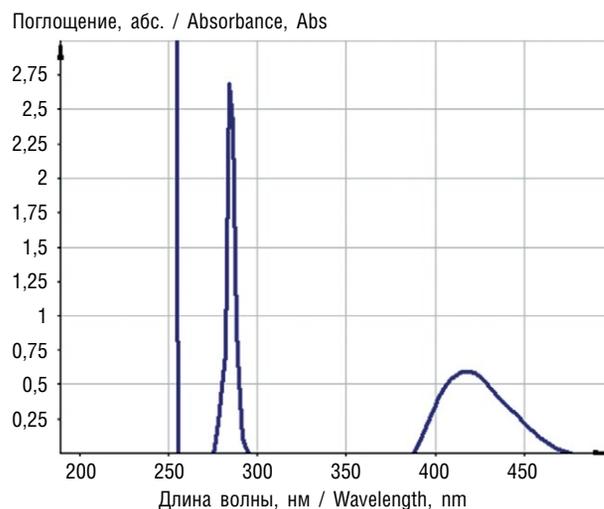


Рис. 3. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени обыкновенной (дифференциальный вариант)

Fig. 3. The electronic spectrum of the solution of the water-alcohol extraction from the leaves of *Syringa vulgaris* (differential version)

Таблица 1 / Table 1

Зависимость полноты извлечения суммы флавоноидов из листьев сирени обыкновенной
Dependence of the recovery rate of total flavonoids from the leaves of *Syringa vulgaris*

Экстрагент	Соотношение сырье : экстрагент	Время экстракции, мин	Степень измельчения, мм	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье, %
40 % этиловый спирт	1:30	60 мин	2	2,65 ± 0,16
60 % этиловый спирт	1:30	60 мин	2	3,10 ± 0,19
70 % этиловый спирт	1:30	60 мин	2	3,36 ± 0,21
80 % этиловый спирт	1:30	60 мин	2	3,27 ± 0,20
90 % этиловый спирт	1:30	60 мин	2	3,01 ± 0,18
70 % этиловый спирт	1:30	30 мин	2	2,64 ± 0,16
70 % этиловый спирт	1:30	45 мин	2	3,63 ± 0,22
70 % этиловый спирт	1:30	90 мин	2	3,11 ± 0,19
70 % этиловый спирт	1:30	120 мин	2	3,04 ± 0,19
70 % этиловый спирт	1:30	45 мин	2	3,26 ± 0,20
70 % этиловый спирт	1:20	45 мин	2	2,78 ± 0,17
70 % этиловый спирт	1:50	45 мин	2	3,38 ± 0,21
70 % этиловый спирт	1:50	45 мин	1	3,31 ± 0,20
70 % этиловый спирт	1:50	45 мин	2	2,79 ± 0,17
70 % этиловый спирт	1:50	45 мин	3	2,41 ± 0,15

время экстракции — извлечение на кипящей водяной бане в течение 45 мин; степень измельчения — 1 мм (табл. 1).

Методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 70 % этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 45 мин. Затем колбу охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (красная полоса). Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл 3 % спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 96 % этиловым спиртом (испытуемый раствор А). Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 412 нм через 40 мин после приготовления. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 1 мл извлечения (1 : 50) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора 96 % этиловым спиртом до метки.

Примечание: Приготовление раствора рутин-стандартного образца. Около 0,020 г (точная навеска) рутин помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70 % этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70 % этиловым спиртом до метки (раствор А рутин). 1 мл раствора А рутин помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 1 мл 3 % спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 96 % этиловым спиртом (испытуемый раствор Б рутин). Измеряют

оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 412 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, который готовят следующим образом: 1 мл раствора А рутин помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки 96 % этиловым спиртом (раствор сравнения Б рутин).

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (x) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{D \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 50 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 — оптическая плотность раствора ГСО рутин; m — масса сырья, г; m_0 — масса ГСО рутин, г; W — потеря в массе при высушивании, %.

В случае отсутствия стандартного образца рутин целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения — 240.

$$x = \frac{D \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{m \cdot 240 \cdot (100 - W)},$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора; m — масса сырья, г; m_0 — масса ГСО рутин, г; 240 — удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) ГСО рутин при 412 нм; W — потеря в массе при высушивании, %.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной представлены в табл. 2. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют, что ошибка единичного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной с доверительной вероятностью 95 % составляет $\pm 6,12$ %.

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов листьев сирени обыкновенной и рутин с алюминием хлоридом. Линейность методики определяли для серии растворов рутин (с концентрациями

Таблица 2 / Table 2

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной

Metrological characteristics of the method of quantitative determination of total flavonoids in the leaves of *Syringa vulgaris*

f	$\bar{X}, \%$	S	$P, \%$	$t(P, f)$	$\pm X$	$E, \%$
15	3,05	0,3367	95	2,13	$\pm 0,19$	$\pm 6,12$

Таблица 3 / Table 3

Содержание суммы флавоноидов в образцах листьев сирени обыкновенной
The content of total flavonoids in samples of *Syringa vulgaris* leaves

№ образца	Характеристика образца сырья	Содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом сырье (%) в пересчете на рутин
1	Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2015 г.)	3,79 ± 0,23
2	г. Уральск (октябрь 2016 г.)	2,94 ± 0,18
3	Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2016 г.)	3,89 ± 0,24
4	г. Тольятти (май 2018 г.)	2,76 ± 0,17
5	Пензенская обл., Никольский р-н (май 2019 г.)	3,12 ± 0,19

в диапазоне от 0,00880 до 0,03520 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 0,98953.

Правильность методики определяли методом добавок раствора рутина с известной концентрацией (25, 50 и 75 %) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 98 %.

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов листьев сирени обыкновенной (табл. 3) и при этом определено, что содержание суммы флавоноидов варьирует от 2,76 до 3,89 %, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для сырья данного растения содержание суммы флавоноидов не менее 2,5 %.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности стандартизации листьев сирени обыкновенной путем определения суммы флавоноидов методом спектрофотометрии при аналитической длине волны 412 нм в пересчете на рутин.

Выводы

1. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием ГСО рутина при аналитической длине волны 412 нм.
2. Содержание суммы флавоноидов для листьев сирени обыкновенной варьирует от 2,76 до 3,89 %. Ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95 % составляет ±6,12 %.
3. Результаты проведенных исследований позволяют рекомендовать для листьев сирени обыкновенной нижний предел содержания суммы флавоноидов не менее 2,5 %.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Белов Н.П., Гайдукова О.С., Панов И.А., и др. Лабораторный спектрофотометр для ультрафиолетовой области спектра // Известия высших учебных заведений. Приборостроение. – 2011. – Т. 54. – № 5. – С. 81–87. [Belov NP, Gaidukova OS, Panov IA, et al. Laboratory spectrophotometer for ultraviolet spectral region. *Proceedings of higher educational institutions. Instrument making.* 2011;54(5):81-87. (In Russ.)]
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. – М.: Медицина, 2018. [Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoy Federatsii. XIV ed. Moscow: Meditsina; 2018. (In Russ.)]
3. Климова И.Ю. Аналитические и технические исследования по разработке новых препаратов на основе коры сирени обыкновенной. – Самара, 2005. – 159 с. [Klimova IYu. Analiticheskiye i tekhnicheskiye issledovaniya po razrabotke novykh preparatov na osnove kory sirenii obyknovennoy. Samara; 2005. 159 p. (In Russ.)]
4. Куркин В.А., Маевская О.В., Браславский В.Б., и др. К вопросу о стандартизации лекарственного сырья, содержащего флавоноиды и фенилпропаноиды // Применение хроматографии в пищевой, микробиологической и медицинской промышленности: материалы Всесоюзной конференции, Геленджик, 8–12 окт. 1990 г. – М.: Б. и., 1990. – С. 85–86. [Kurkin VA, Mayevskaya OV, Braslavsky VB, et al. K voprosu o standartizatsii lekarstvennogo syr'ya, soderzhashchego flavonoidy i fenilpropanoidy. (Conference proceedings) *Primeneniye khromatografii v pishchevoy, mikrobiologicheskoy i meditsinskoy promyshlennosti: materialy Vsesoyuznoy konferentsii, Gelendzhik, 1990 October 8-12.* Moscow: B. i.; 1990. P. 85-86. (In Russ.)]
5. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармац. вузов. Изд. 4-е, перераб. и доп. – Самара: Офорт, 2019. – 1278 с. [Kurkin VA. *Pharmacognosy: A textbook for students pharmaceutical universities.* 4th revised and updated. Samara: Ofort; 2019. 1278 p. (In Russ.)]
6. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Гриненко Н.А. Иридоиды коры *Syringa vulgaris* // Химия природных соединений. – 1990. – № 5. – С. 695–697. [Kurkin VA,

- Zapsochnaya GG, Grinenko NA. Iridoids of the bark of *Syringa vulgaris*. *Chemistry of Natural compounds*. 1990;(5):695-697. (In Russ.)
7. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Гриненко Н.А., и др. Фенольные соединения коры *Syringa vulgaris* // Химия природных соединений. – 1989. – № 4. – С. 581–582. [Kurkin VA, Zapsochnaya GG, Grinenko NA, et al. Phenolic compounds of the bark of *Syringa vulgaris*. *Chemistry of Natural compounds*. 1989;(4):581-582. (In Russ.)]
8. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Кривенчук П.Е. Флавоноиды и маннит из листьев *Syringa vulgaris* // Химия природных соединений. – 1980. – № 3. – С. 418–419. [Zapsochnaya GG, Kurkin VA, Krivenchuk PE. Flavonoids and mannitol from the leaves of *Syringa vulgaris*. *Chemistry of Natural compounds*. 1980;(3):418-419. (In Russ.)]

■ Информация об авторах

Анастасия Дмитриевна Серебрякова — аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара. E-mail: lazymoon93@mail.ru.

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара. E-mail: kurkinvladimir@yandex.ru.

■ Information about the authors

Anastasiya D. Serebryakova — Postgraduate student, Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy, Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: lazymoon93@mail.ru.

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy, Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: kurkinvladimir@yandex.ru.