

УДК 615.322:543.422.3

## МЕТОДИКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ МОРИНГИ МАСЛИЧНОЙ (*MORINGA OLEIFERA*)

Е.Е. Курдюков<sup>1\*</sup>, О.А. Водопьянова<sup>1</sup>, И.Я. Моисеева<sup>1</sup>, Е.Ф. Семенова<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Пензенский государственный университет; <sup>2</sup> Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО КФУ им. В.И. Вернадского; \*e-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru)

Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях моринги масличной методом дифференциальной спектрофотометрии в присутствии хлорида алюминия. Обоснованы оптимальные условия экстракции флавоноидов из сырья этого растения (экстрагент – 70%-й этиловый спирт; соотношение сырья и экстрагента 1:200; время экстракции 90 мин; степень измельченности сырья 1,0 мм).

**Ключевые слова:** моринга масличная (*Moringa oleifera*), фармацевтическое растительное сырье, листья, флавоноиды, спектрофотометрия, рутин.

Моринга масличная (*Moringa oleifera*) из семейства *Moringaceae* – небольшое, быстрорастущее дерево высотой до 10–12 м, листья которого являются перспективным лекарственным сырьем, содержащим флавоноиды и фенилпропаноиды [1, 2]. В частности, листья моринги содержат рутин, кверцетин, кофейную кислоту, хлорогеновую кислоту, изокверцитрин, кемпферитрин и др. [1, 3–5].

Однако в настоящее время моринга масличная (далее моринга) считается перспективным, но малоизученным растением, так как недостаточно исследован ее химический состав и отсутствуют методики количественного определения интересных для фармацевтики групп биологически активных соединений (БАС), необходимые для создания нормативных документов определения качества лекарственного растительного сырья.

Цель работы состояла в разработке спектрофотометрической методики количественного определения суммы флавоноидов, экстрагируемых из листьев моринги, в пересчете на рутин.

### Объекты и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали высушенные листья моринги. Извлечение флавоноидов из листьев моринги осуществляли путем однократной экстракции этанолом (95-, 70- и 40%-м) при нагревании на кипящей водяной бане в течение 90 мин. Статистическую обработку результатов осуществляли по методике [7]. Для доказательства присутствия флавонои-

дов в извлечениях проводили такие испытания, как цианидиновая проба и реакции с раствором аммиака, гидроксидом натрия, хлоридом железа(III) [4].

Для измерений на спектрофотометре «СФ-200» использовали кварцевые кюветы с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Спектры собственного поглощения флавоноидов листьев моринги регистрировали в интервале длин волн 200–500 нм. Для количественного определения флавоноидов в извлечениях из листьев моринги применяли метод дифференциальной спектрофотометрии. Статистическую обработку осуществляли по методике, описанной в ГФ XIII [6].

Измельченное сырье (1 г, точная навеска) помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляли 200 мл спирта этилового и взвешивали с погрешностью  $\pm 0,01$  г. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане в течение 1 ч при перемешивании. Извлечение охлаждали до комнатной температуры, взвешивали и при необходимости доводили до первоначальной массы спиртом, концентрация которого соответствовала используемой для экстракции.

Полученный продукт фильтровали через бумажный фильтр и отбрасывали первые 10 мл экстракта (раствор А). В две мерные колбы (25 мл) помещали по 2 мл раствора А. В первую добавляли 3 мл 3%-го раствора  $AlCl_3$ , в обеих колбах объем доводили до метки 70%-м этанолом и перемешивали (раствор Б). В качестве

раствора сравнения использовали раствор из первой колбы (без добавления раствора  $AlCl_3$ ).

Метод основан на исследовании спектров поглощения продуктов реакции суммы флавоноидов листьев моринги с хлоридом алюминия. Содержание суммы флавоноидов рассчитывали по удельному показателю поглощения рутина (190) в пересчете на рутин в процентах ( $X$ ). Для вычислений использовали формулу:

$$X = \frac{D \times 100 \times 25 \times 100}{190 \times m \times 2 \times (100 - W)},$$

где  $D$  – оптическая плотность раствора; 190 – удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом при длине волны 408 нм;  $m$  – навеска сырья (г);  $W$  – влажность сырья (%).

### Обсуждение результатов

Были проведены качественные реакции на присутствие флавоноидов. При использовании раствора аммиака наблюдали буро-желтое окрашивание, хлорид железа показал зеленое окрашивание, а проба Шинода – розовое.

Один из наиболее быстрых и доступных методов количественного определения флавоноидов – спектрофотометрический метод, основанный на определении оптической плотности раствора анализируемых веществ при определенной длине волны [5, 7].

При разработке методик количественного определения флавоноидов в лекарственном растительном сырье необходимо учитывать, что близкие спектральные характеристики могут иметь и другие фенольные соединения, в частности фенилпропаноиды, кумарины и ксантоны [5,7]. По литературным данным, основной флавоноид в листьях моринги – рутин, а спектр поглощения флавоноидов из сырья моринги совпадает со спектром поглощения рутина [5]. Следовательно, рутин может быть использован в методике количественного анализа в качестве стандарта.

В методиках количественного определения флавоноидов используется реакция комплексообразования с хлоридом алюминия [5–8]. Из литературных данных известно, что в условиях комплексообразования флавоноидов с хлоридом алюминия наблюдается bathochromный сдвиг полосы поглощения флавоноидов, который обнаруживается в УФ-спектре в виде максимума поглощения в области 380–412 нм [5, 7, 8]. В нашем случае в результате количе-

ственного определения флавоноидов в листьях моринги было установлено, что в присутствии хлорида алюминия максимум поглощения комплексного соединения флавоноидов моринги находится в области  $408 \pm 2$  нм.

В ходе эксперимента изучены условия оптимальной экстракции флавоноидов в зависимости от соотношения сырья и экстрагента, природы экстрагента, степени измельченности сырья, а также времени экстрагирования. Было установлено что оптимальным экстрагентом является 70%-й этиловый спирт. При определении оптимальной степени измельченности сырья листья моринги измельчали, просеивали через сито и брали навески с определенным размером частиц (мм): 0,5; 1,0 и 2,0. По нашим данным, степень измельчения от 1 до 2 мм сильного влияния на экстракцию не оказывает, поэтому в качестве оптимальной была выбрана средняя степень измельчения – 1 мм. В ходе экспериментов было так же установлено, что максимальное количество флавоноидов извлекалось при соотношении сырья и экстрагента, равном 1:200, и времени экстракции 90 мин.

Максимальное количество флавоноидов из листьев моринги в оптимальных условиях составило 4,08% (весовых), что позволяет поставить это растение по содержанию флавоноидов в один ряд с уже используемыми лекарственными растениями – источниками флавоноидов.

Для того чтобы предлагаемая методика заняла достойное место при определении качества листьев моринги, были определены метрологические характеристики. Для установления метрологических характеристик проводили пять параллельных определений, затем вычисляли величину стандартного отклонения ( $S = 0,0896$ ) и дисперсию ( $S^2 = 0,0081$ ). Полуширина доверительного интервала ( $\Delta X$ ) составила 0,0785, ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляла не более  $\pm 2,73\%$  при определении суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на рутин. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии систематической ошибки при использовании разработанной нами методики [7].

### Выводы

Предложена методика количественного определения суммарного содержания флавоноидов в пересчете на рутин в листьях моринги масличной. Установлены оптимальные параме-

тры экстракции: сырье размером частиц не более 1 мм, экстрагент – 70%-й раствор этанола, массовое соотношение сырья и экстрагента составляет 1:200, время экстракции на кипящей водяной бане 90 мин. Определены параметры

УФ-спектра водно-спиртового извлечения из листьев моринги при максимальной длине волны  $408 \pm 2$  нм. Содержание суммы флавоноидов в сырье моринги составляет 4,08%.

Конфликта интересов нет.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Foidl N., Makkar H.P.S., Becker K. The potential of Moringa oleifera for agricultural and industrial uses / The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa. Dakar, Senegal, 2001. P. 45.
2. Ndhlala A.R., Mulaudzi R., Ncube B., Abdelgadir H.A., du Plooy C.P., van Staden J. Antioxidant, antimicrobial and phytochemical variations in thirteen Moringa oleifera. Lam. cultivars. *Molecules*. 2014. Vol. 19. N 7. P. 10480 (<http://dx.doi.org/10.3390/molecules190710480>).
3. Amaglo N.K., Bennet R.N., Curto B.L. // *J. of Food Chem.* 2010. Vol. 122. N 4. P. 1047.
4. Bennett R.N., Mellon F.A., Foidl N. // *J. Agri Food Chem.* 2003. Vol. 51. P. 3546.
5. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. Самара, 2012.
6. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издание. М., 2015.
7. Куркина А.В. Актуальные вопросы химической стандартизации лекарственных растений, содержащих флавоноиды // *Фармация*. 2012. Т. 60. № 7. С. 44.
8. Куркин В.А., Рязанова Т.К. // *Химико-фармацевтический журнал*. 2013. Т. 47. № 4. С. 34.

Поступила в редакцию 01.03.2021

Получена после доработки 04.03.2021

Принята к публикации 10.03.2021

#### METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE AMOUNT OF FLAVONOIDS IN THE LEAVES OF MORINGA OLEIFERA

E.E. Kurdyukov<sup>1\*</sup>, O.A. Vodop'janova<sup>1</sup>, I.Ya. Moiseeva<sup>1</sup>, E.F. Semenova<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Penza State University; <sup>2</sup>Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU; \*e-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru)

The quantitative determination of the amount of flavonoids in the leaves of *Moringa oleifera* by differential spectrophotometry was carried out. Analytical maxima of absorption of flavonoids of the leaves of *Moringa oleifera* – 290 nm (shoulder) and 330 nm (maximum) were determined. It was found that in the presence of aluminum chloride, moringa flavonoids form a complex compound with an absorption maximum of 408 nm. Optimal conditions for the extraction of flavonoids from the raw materials of this plant (extractant-ethyl alcohol 70 %; the ratio of “raw material-extractant” – 1:200; extraction time – 90 minutes; the degree of grinding of raw materials is 1.0 mm).

**Key words:** oilseed moringa, leaves, flavonoids, spectrophotometry, rutin.

**Сведения об авторах:** Курдюков Евгений Евгеньевич – доцент кафедры «Общая и клиническая фармакология» ФГБОУ ВО Пензенский государственный университет, канд. фарм. наук (e.e.kurdyukov@mail.ru); Водопьянова Ольга Александровна – доцент кафедры «Общая и клиническая фармакология» ФГБОУ ВО Пензенский государственный университет, канд. мед. наук (ol.vodopjanova@yandex.ru); Моисеева Инесса Яковлевна – зав. кафедрой «Общая и клиническая фармакология» ФГБОУ ВО Пензенский государственный университет, докт. мед. наук (moiseeva\_pharm@mail.ru); Семенова Елена Федоровна – профессор кафедры «Фармация» Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО КФУ им. В.И. Вернадского, канд. биол. наук (sef1957@mail.ru).