ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 615.451.16:615.322 DOI: https://doi.org/10.52540/2074-9457.2025.3.42

А. А. Климович, О. С. Игнатовец, Д. П. Сошко

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ЦВЕТКАХ ПУПАВКИ БЛАГОРОДНОЙ (*CHAMAEMELUM NOBILE* (L.) ALL.)

Белорусский государственный технологический университет, г. Минск, Республика Беларусь

Освоение и интеграция новых лекарственных растений в клиническую практику требуют глубокого изучения их качественного и количественного компонентного состава. В цветках пупавки благородной (Chamaemelum nobile L.), относящейся к ценным лекарственным растениям, идентифицированы различные классы биологически активных веществ, среди которых особый интерес представляют флавоноиды благодаря их антиоксидантным, противовоспалительным и кардиопротекторным свойствам. Целью данного исследования являлась разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии в цветках пупавки благородной.

В исследовании использовались воздушно-сухие цветки пупавки благородной, заготовленные на территории Республики Беларусь. Для количественного определения флавоноидов в цветках пупавки благородной разработана дифференциально-спектрофотометрическая методика, основанная на комплексообразовании с хлоридом алюминия. Экспериментально подобраны оптимальные условия: объемное соотношение водно-спиртового экстракта цветков пупавки благородной, объема 2%-го водно-спиртового раствора хлорида алюминия и продолжительность реакции. Количественное содержание флавоноидов рассчитано относительно стандартного образца цинарозида. Соответствие разработанной методики аналитическим требованиям подтверждено в ходе валидации по ключевым характеристикам: линейности, правильности, прецизионности, специфичности. Установлено, что общая концентрация флавоноидов в цветках пупавки благородной, независимо от года культивирования, составляет более 5,5% в пересчете на абсолютно сухое сырье.

Ключевые слова: флавоноиды, Chamaemelum nobile L., пупавка благородная, валидация, цинарозид, дифференциальная спектрофотометрия.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно Государственной фармакопее Республики Беларусь, в разделе «Частные фармакопейные статьи на лекарственное растительное сырье» описано 17 видов растений семейства Астровые (*Asteraceae*), однако лишь для 7 из них стандартизированы методики количественного определения флавоноидов.

Пупавка благородная (*Chamaemelum nobile* L.), относящаяся к семейству Астровые (*Asteraceae*), представляет собой лекарственное растение со схожей с аптечной ромашкой биологической активностью.

Исследования химического состава цветков пупавки благородной подтвердили наличие различных классов биологически активных веществ, среди которых особый интерес представляют флавоноиды, которые определяют фармакологическую активность растения и находят применение в производстве лекарственных средств, обладающих противовоспалительными, антиоксидантными и ранозаживляющими свойствами, а также – косметической продукции [1]. Многочисленные исследования подтверждают, что флавоноиды обладают выраженной фармакологической активностью, в частности противовоспалительными, регенеративными, антиоксидантными и другими полезными качествами [1–7].

Литературные данные свидетельствуют, что в составе цветков пупавки благо-

родной присутствуют такие флавоноиды (преобладает гликозидная форма), как цинарозид, космосиин, антемозид, апигенин, хамамелозид, кверцетин 3-O-α-L-рамнозид и кемпферол [1, 8].

Современная аналитическая практика предлагает широкий спектр физико-химических методов исследования биологически активных веществ растительного сырья, однако методики, разработанные с применением дифференциальной спектрофотомерии, являются наиболее доступными и экономически целесообразными. В основе большинства методик оценки суммарного содержания флавоноидов лежит использование комплексообразующих агентов (главным образом хлорид алюминия), образующих с указанными биологически активными веществами (БАВ) окрашенные соединения, что вызывает характерный батохромный сдвиг максимума поглощения из области 330–350 нм в диапазон 390–430 нм [9, 10].

Усиление контроля качества фитопрепаратов в соответствии с современными фармакопейными требованиями делает обязательным разработку точных методик определения содержания фармакологически активных соединений, в связи с чем оценка качества по содержанию основных действующих веществ, в частности флавоноидов, приобретает особую актуальность [11]. В то же время, пупавка благородная является потенциально значимым сырьем для фармацевтической промышленности Республики Беларусь. В связи с вышеизложенным, целью данного исследования является разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии в цветках пупавки благородной.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для изучения послужили воздушно-сухие цветки пупавки благородной, заготовленные в природных условиях на территории Республики Беларусь. Экстракцию флавоноидов из цветков пупавки благородной проводили в оптимальных условиях, определенных на подготовительном этапе исследований [8].

Для экстракции флавоноидов была взята навеска массой 2,00 ± 0,01 г воздушно-сухого сырья. Растительный материал помещали в термостойкую коническую колбу, куда добавили 100 мл 50%-го этилового спирта и экстрагировали на водяной бане при 60 °С в течение 50 мин с последующей фильтрацией через бумажный фильтр.

За основу методики количественного анализа флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии взяты стандартизированные методики (в частности, для бессмертника песчаного цветков), представленные в Государственной фармакопее Республики Беларусь (ГФ РБ, Т. II, 2-е издание).

Учитывая содержание цинарозида в цветках пупавки благородной, данный флавоноид был принят за стандарт для количественных определений. Экспериментальную работу проводили с использованием сертифицированного стандартного образца (СО) цинарозида (Sigma). Для приготовления рабочего раствора 0,050 ± 0,001 г растворяли в 100 мл 70%-го этилового спирта.

Количественное определение флавоноидов осуществляли методом комплексообразования с хлоридом алюминия в водно-спиртовых экстрактах пупавки благородной и растворе цинарозида. Из диапазона рекомендуемых концентраций (2–5%) предпочтение отдано 2%-му спиртовому раствору хлорида алюминия, что, согласно литературным источникам [12, 13], позволяет избежать опалесценции и выпадения осадка и получить воспроизводимые результаты. Для проведения исследований использовали 2%-й (масс.) раствор хлорида алюминия в 50%-м этиловом спирте.

С целью обеспечения воспроизводимых результатов количественного определения флавоноидов, методика предусматривает введение в реакционную смесь растворов либо хлористоводородной, либо уксусной кислот [14]. В работе использовали 33%-й раствор уксусной кислоты.

На начальном этапе исследований методом последовательного варьирования параметров изучали зависимость оптической плотности от объема добавляемого раствора хлорида алюминия для определения оптимального соотношения компонентов. В последующем экспериментально устанавливали продолжительность реакции комплексообразования, принимая за критерий оптимизации максимальные значения оптической плотности и расчетного содержания флавоноидов.

В основе дифференциальной спектро-

фотометрической методики лежит использование в качестве раствора сравнения экстракта, в котором хлорид алюминия заменен на 50%-й этиловый спирт. Такой подход позволяет дифференцировать вклад флавоноидных комплексов от поглощения других компонентов растительного экстракта.

На следующем этапе измеряли оптическую плотность комплекса цинарозида с хлоридом алюминия с последующим расчетом суммарного содержания флавоноидов (*X*, % от сухого сырья) по формуле (1):

$$X = \frac{A_э \cdot m_0 \cdot V_э \cdot V'_э \cdot V_{x0}}{A_0 \cdot m_c \cdot V_0 \cdot V'_0 \cdot V_{xэ} \cdot (1 - W)} \cdot 100\%, \quad (1)$$

где $A_э$ и A_0 – оптическая плотность испытуемого раствора и раствора СО рутина соответственно;

m_c и m_0 – масса навески цветков пупавки благородной и СО рутина соответственно, г;

$V_э$ и V_0 – объем полученного экстракта и раствора рутина соответственно, мл;

$V'_э$ и V'_0 – объем мерных колб при приготовлении испытуемого раствора и раствора СО рутина для анализа соответственно, мл;

$V_{xэ}$ и V_{x0} – объем аликвоты экстракта и раствора СО рутина соответственно, мл;

W – влажность растительного сырья, %.

Измерения оптической плотности выполняли с использованием спектрофотометра SPECORD 200 (Analytik Jena, Германия) при длине оптического пути 1 см. Спектры поглощения экстрактов и цинарозда регистрировали в области 250–500 нм.

Валидационные испытания осуществляли в полном соответствии с требованиями технического кодекса установившейся практики (ТКП 432-2012) [15], включая оценку следующих характеристик методики: специфичности, линейности диапазона измерений, прецизионности и правильности.

Статистический анализ данных выполняли с применением программного обеспечения Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На начальном этапе было установлено оптимальное соотношение объемов экстракта флавоноидов и раствора хлорида алюминия. Анализ результатов, представленных на рисунке 1, показал, что наиболее оптимальным соотношением компонентов реакционной смеси «экстракт: раствор хлорида алюминия» для количественного определения флавоноидов в экстракте цветков пупавки благородной методом дифференциальной спектрофотометрии является 1 : 3.

На следующем этапе исследований определена оптимальная продолжительность комплексообразования флавоноидов с хлоридом алюминия. Результаты представлены на рисунке 2.

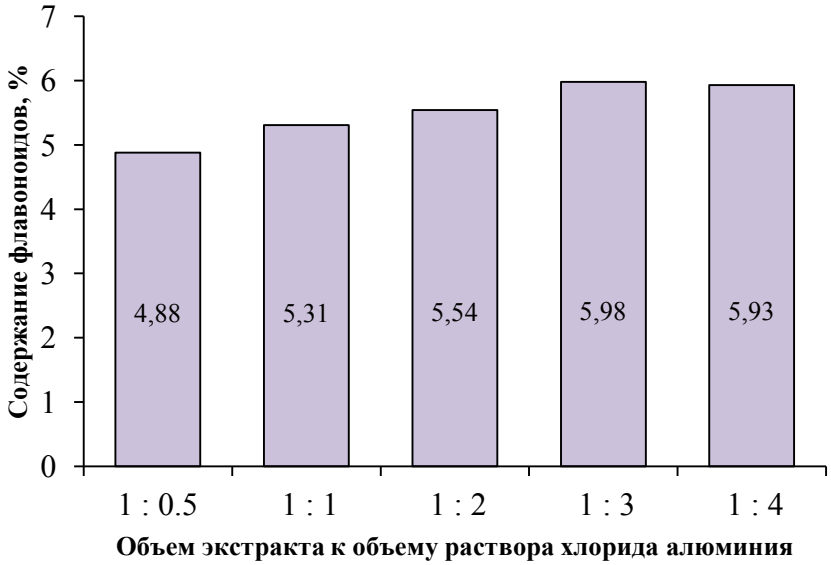

Рисунок 1. – Влияние отношения объема экстракта к объему раствора хлорида алюминия на содержание флавоноидов в экстракте цветков пупавки благородной

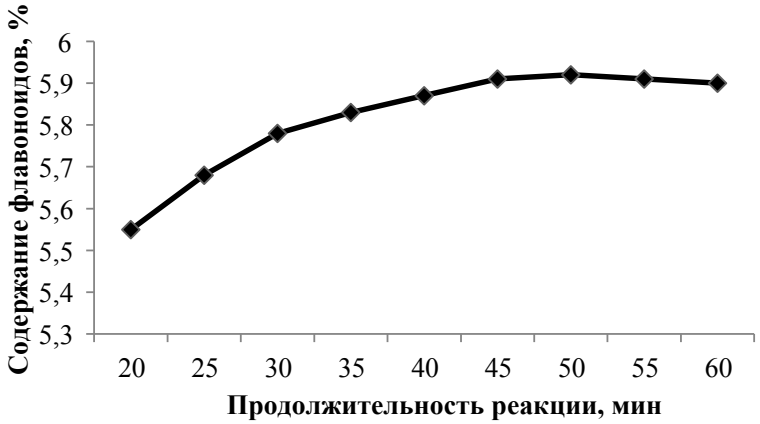

Рисунок 2. – Влияние продолжительности реакции комплексообразования с хлоридом алюминия на содержание флавоноидов в экстракте цветков пупавки благородной

Согласно полученным данным, оптическая плотность реакционной смеси достигает максимума через 50 мин, после чего регистрируется уменьшение аналитического сигнала, что коррелирует с уменьшением расчетного выхода флавоноидов.

С учетом вышесказанного, для количественного определения содержания флавоноидов разработанная методика дифференциальной спектрофотометрии включает следующие этапы: к 0,4 мл анализируемого экстракта в мерной колбе (5 мл) добавляют 1,2 мл 2% раствора хлорида алюминия и 0,1 мл 33%-го раствора уксусной кислоты. Объем доводят до метки 50%-м этиловым спиртом, тщательно перемешивают и выдерживают 50 минут в защищенном от света месте. Оптическую плотность анализируемого раствора регистрируют спектрофотометрически, используя в качестве раствора сравнения реакционную смесь, где хлорид алюминия заменен на 50%-й этиловый спирт, при длине волны 396 нм (толщина кюветы 1 см). Параллельно анализируют раствор цинарозида, приготовленный по той же схеме.

Обработку экспериментальных данных проводили согласно расчетной формуле (1) определения содержания флавоноидов.

В рамках валидационных исследований разработанной методики количественного анализа устанавливали специфичность (селективность) методики путем сравнительной оценки дифференциальных спектров экстракта цветков пупавки благородной и стандартного образца цинарозида (рисунок 3).

Спектральный анализ комплекса спиртового экстракта цветков пупавки благородной с хлоридом алюминия выявил максимум поглощения при длине волны 396 ± 2 нм, что позволяет использовать цинарозид в качестве СО при расчете суммарного содержания флавоноидов и рекомендовать данную длину волны для аналитических целей.

Хотя большинство видов лекарственного растительного сырья стандартизируют по содержанию флавоноидов в пересчете на рутин (λ_{max} = 410 ± 2 нм), использование данного СО для количественной оценки экстракта пупавки благородной нецелесообразно.

Оценку линейности проводили на шести уровнях концентраций от теоретического содержания суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид. Приготовление растворов для анализа осуществляли методом последовательного разбавления и концентрирования аликвот (0,2–0,7 мл) с целью создания серии образцов с объемами аликвот экстракта 50%, 75%, 100%, 125%, 150% и 175% для количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид. После регистрации значений оптической плотности проводили количественный расчет содержания флавоноидов. Результаты статистической обработки линейности методики представлены на рисунке 4.

Анализ экспериментальных данных свидетельствуют о линейной зависимости между величиной оптической плотности

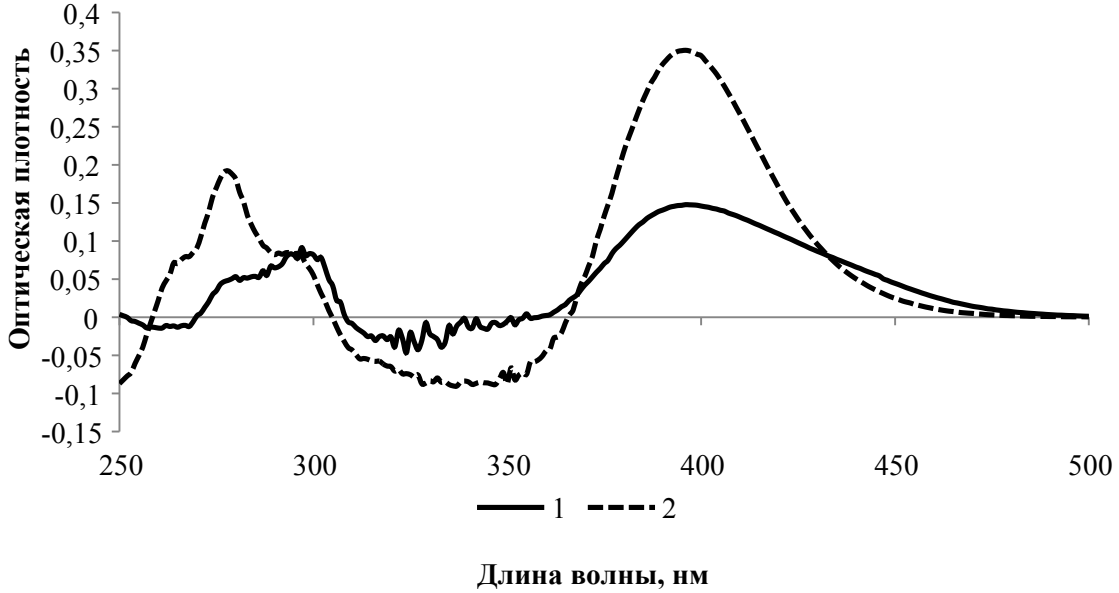

Рисунок 3. – Дифференциальные спектры водно-спиртового экстракта цветков пупавки благородной (1) и раствора цинарозида (2)

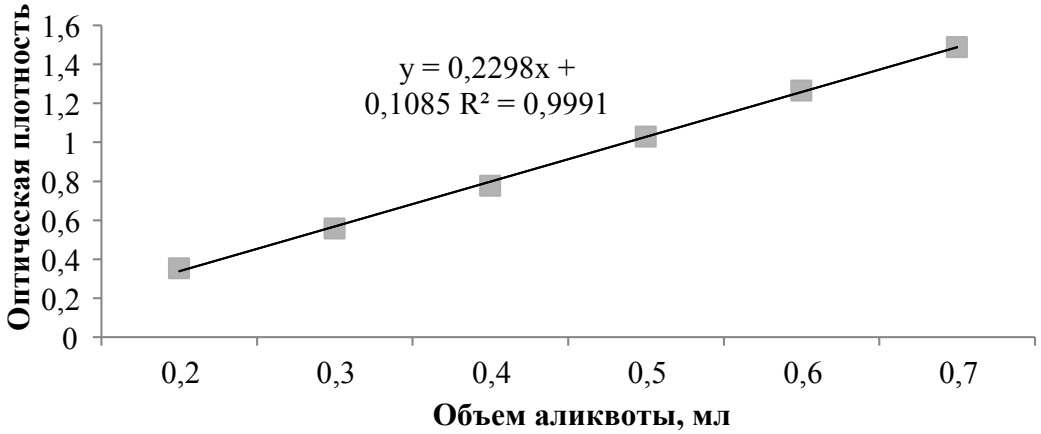

Рисунок 4. – Влияние объема аликвоты в пробе на оптическую плотность экстракта флавоноидов

и объемом аликвоты. Верификацией выполнения основного закона спектрофотометрического анализа (закон Бугера–Ламберта–Бера) служит коэффициент корреляции, стремящийся к единице.

Исследования показали, что разработанная аналитическая методика сохраняет линейную зависимость в интервале 50–175% концентраций флавоноидов, значительно превышающем минимально допустимые 80–120%, установленные техническим кодексом [15]. Это подтверждает соответствие методики всем нормативным требованиям для количественного анализа флавоноидов в исследуемом растительном сырье.

Прецизионность разработанной методики оценивали по показателям повторяемости (сходимости) и внутрилабораторной прецизионности, результаты которых представлены в таблице 1.

Анализ данных таблицы 1 показывает, что максимальное значение относительной погрешности не превышает 1,5%: 1,32% для показателя повторяемости и 1,23% для параметра внутрилабораторной воспроизводимости, что доказывает высокую точность и воспроизводимость предложенной методики. Результаты считаются приемлемыми при условии, что относительная погрешность их среднего значения не выходит за пределы 10% [16].

Таблица 1. – Результаты определения прецизионности методики количественного определения флавоноидов в цветках пупавки благородной

№ опыта	Содержание флавоноидов, %	Метрологические характеристики
Повторяемость (сходимость)		
1	5,61	P = 95%; n = 6; f = 5; $t(P, f)$ = 2,5706; $\overline{X}$ = 5,68 $\overline{X} \pm \Delta x$ = 5,68±0,075 X = 1,32% RSD = 1,26%
2	5,67	
3	5,63	
4	5,79	
5	5,65	
6	5,75	
Промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность		
1	5,63	P = 95%; n = 6; f = 5; $t(P, f)$ = 2,5706; $\overline{X}$ = 5,68 $\overline{X} \pm \Delta x$ = 5,68±0,07 ε = 1,23% RSD = 1,22%
2	5,79	
3	5,62	
4	5,75	
5	5,68	
6	5,65	

Правильность методики подтверждали методом добавок, анализируя образцы экстракта с известными количествами стандартного образца цинарозида. Критерием оценки служил средний процент восстановления флавоноидов, представляющий отношение найденного содержания флавоноидов к теоретически ожидаемому. Допустимый диапазон данного показателя составил 100 ± 3%. [15]. Для обеспечения статистической достоверности результатов для всех исследуемых концентраций выполняли три независимых измерения, данные которых сведены в таблицу 2.

Таблица 2. – Результаты определения правильности методики количественного определения флавоноидов в цветках пупавки благородной

№ опыта	Исходное содержание флавоноидов, мг	Добавлено СО цинарозида, мг	Ожидаемое содержание, мг	Полученное содержание, мг	Открываемость, %	Метрологические характеристики
1	9,2	0,15	9,35	9,31	99,6	P = 95%; n = 9; f = 8; $t(P, f)$ = 2,306; $\overline{X}$ = 100,22 $\overline{X} \pm \Delta x$ = 100,2±1,00 ε = 2,3% RSD = 0,44%
2		0,15	9,35	9,35	99,96	
3		0,15	9,35	9,38	100,2	
4		0,3	9,5	9,48	99,83	
5		0,3	9,5	9,51	100,15	
6		0,3	9,5	9,58	100,8	
7		0,45	9,65	9,70	100,5	
8		0,45	9,65	9,74	100,9	
9		0,45	9,65	9,65	100,04	

Экспериментально определенный процент восстановления находился в интервале от 99,6 до 100,9% со средним значением 100,22%, что доказывает высокую точность и надежность разработанной методики количественного определения флавоноидов.

Анализ полученных результатов позволяет заключить, что валидационные характеристики (специфичность, линейность, прецизионность и правильность) разработанной методики количественного определения флавоноидов в экстрактах цветков пупавки благородной соответствуют установленным нормативным требованиям.

С применением разработанной стандартизированной методики проведен сравнительный анализ экстрактов цветков пупавки благородной, культивируемой в разные годы. Экспериментальные данные систематизированы и приведены в таблице 3.

Как известно из литературных данных [10], год культивирования может оказы-

вать существенное влияние на накопление БАВ, в частности, таких вторичных метаболитов, как флавоноиды. Однако, как следует из представленных в таблице 3 данных, существенных различий в содержании флавоноидов в цветках пупавки благородной, культивируемой в указанный период наблюдения, выявлено не было.

Таблица 3. – Содержание флавоноидов в цветках пупавки благородной в разные годы культивирования (% от массы абсолютно сухого сырья)

Год культивирования	Метрологические характеристики (n = 3; P = 95%)		
	$\overline{X} \pm \Delta x$	S_x	ε, %
1-й (урожай 2022 г.)	5,77 ± 0,08	0,009	1,39
2-й (урожай 2023 г.)	5,92 ± 0,08	0,010	1,35
3-й (урожай 2024 г.)	5,94 ± 0,05	0,003	0,84

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения флавоноидов в экстрактах цветков пупавки благородной, основанная на реакции комплексообразования с хлоридом алюминия и дифференциальном измерении оптической плотности. Проведенные исследования позволили установить, что для полного протекания реакции комплексообразования требуется 50 минут при оптимальном объемном соотношении экстракта и раствора хлорида алюминия 1:3. Количественную оценку содержания флавоноидов осуществляли с использованием цинарозида в качестве стандартного образца.

В процессе валидации разработанной методики проведена комплексная оценка ее аналитических характеристик, включая исследование специфичности, линейности, определение прецизионности и подтверждение правильности получаемых результатов.

Экспериментально подтверждена линейная зависимость оптической плотности от объема аликвоты в диапазоне 50–175% от опорного значения. Относительная погрешность измерений не превышала 1,5%, что подтверждает высокую прецизионность методики. Результаты оценки правильности соответствуют установленным критериям. Разработанная методика количественного анализа флавоноидов в экстрактах цветков пупавки благородной пригодна для применения в аналитической практике.

Количественный анализ показал, что общая концентрация флавоноидов в цветках пупавки благородной, независимо от года культивирования, составляет более 5,5% в пересчете на абсолютно сухое сырье.

SUMMARY

A. A. Klimovich, O. S. Ignatovets, D. P. Soshko

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE ASSAY METHOD OF FLAVONOIDS IN FLOWERS OF *CHAMAEMELUM NOBILE* (L.) ALL.

The development and integration of new medicinal plants into clinical practice require a thorough study of their qualitative and quantitative composition. Various classes of biologically active substances have been identified in the flowers of the anthemis nobilis (*Chamaemelum nobile* L.), which belongs to valuable medicinal plants, among which flavonoids are of particular interest due to their antioxidant, anti-inflammatory, and cardioprotective properties. The purpose of this study was to develop and validate a technique for the quantitative determination of flavonoids by differential spectrophotometry in anthemis nobilis flowers.

The study used air-dried anthemis nobilis flowers harvested on the territory of the Republic of Belarus. A differential spectrophotometric technique based on complexation with aluminum chloride has been developed for the quantitative determination of flavonoids in anthemis nobilis flowers. Optimal conditions were experimentally selected: the volume ratio of the water-alcohol extract of anthemis nobilis flowers and the volume of a 2% water-alcohol solution of aluminum chloride and the duration of the reaction. The quantitative content of flavonoids was calculated relative to the standard sample of cynaroside. The compliance of the developed methodology with the analytical requirements was confirmed during validation according to key characteristics: linearity, correctness, precision, specificity. It has been established that

the total concentration of flavonoids in the flowers of the anthemis nobilis, regardless of the year of cultivation, is more than 5.5% in terms of absolutely dry matter raw material.

Keywords: flavonoids, *Chamaemelum nobile* L., anthemis nobilis, validation, cynaroside, differential spectrophotometry.

ЛИТЕРАТУРА

1. Assessment report on *Chamaemelum nobile* (L.) All., flos / European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products. – London, 2010. – P. 1–19.

2. Адамцевич, Н. Ю. Влияние параметров экстракции на выход флавоноидов из листьев воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) / Н. Ю. Адамцевич, В. С. Болтовский, В. В. Титок // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 402–411. – DOI: 10.29235/1029-8940-2020-65-4-402-411.

3. Antimicrobial Capacity of Plant Polyphenols against Gram-positive Bacteria: A Comprehensive Review / F. J. Alvarez-Martínez, E. Barrajon-Catalan, J. A. Encinar [et al.] // Current medicinal chemistry. – 2020. – Vol. 27, N 15. – P. 2576–2606. – DOI: 10.2174/0929867325666181008115650.

4. Алексашина, С. А. Сравнительное изучение антиоксидантной активности фенольных соединений и флавоноидов цветков липы сердцевидной *(TiIia cordata* Mill.), шалфея лекарственного *(Salvia officinalis L.*), донника лекарственного *(Melilotus officinalis* L.), листьев смородины *(Ribes nigrum folia),* земляники лесной *(Fragaria vesca* L.), винограда *(Vitis labrusca),* произрастающих в Самарском регионе / С. А. Алексашина, Н. В. Макарова // Химия растительного сырья. – 2019. – № 3. – С. 153–159. – DOI: 10.14258/jcprm.2019034623.

5. Evaluation of burn wound healing potential of aqueous extract of *Morus alba* based cream in rats / N. Bhatia, A. Singh, R. Sharma [et al.] // The Journal of Phytopharmacology. – 2014. – Vol. 3, N 6. – P. 378–383. – DOI: 10.31254/phyto.2014.3601.

6. Evaluation of the wound healing potential of isoquercetin-based cream on scald burn injury in rats / N. Bhatia, G. Kaur, V. Soni [et al.] // Burns and trauma. – 2016. – Vol. 4. – P. 1–8. – DOI:10.1186/s41038-016-0032-1.

7. Effects and mechanisms of total flavonoids from *Blumea balsamifera* (L.) DC. on skin woundin rats / Y. Pang, Y. Zhang, L. Huang [et al.] // lnternational journal of molecular sciences. – 2017. – Vol. 18, N 12. – P. 2766–2778. – DOI: 10.3390/ijms18122766.

8. Климович, А. А. Определение оптимальных параметров экстракции флавоноидов из цветочной массы пупавки благородной (*Chamaemelum nobile* (L.) All.) / А. А. Климович, Н. Ю. Адамцевич, О. С. Игнатовец // Вестник фармации. – 2023. – № 3. – С. 30–38. – DOI: 10.52540/2074-9457.2023.3.30.

9. Зверев, Я. Ф. Флавоноиды глазами фармаколога. Особенности и проблемы фармакокинетики / Я. Ф. Зверев // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15, № 2. – С. 4–11. – DOI:10.17816/RCF1524-11.

10. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в листьях *Lithospermum officinale* (*Boraginaceae*) / Н. Ю. Адамцевич, Е. И. Закржевская, Е. В. Феськова [и др.] // Растительные ресурсы. – 2022. – Т. 58, № 1. – С. 100–108. – DOI:10.31857/S0033994622010034.

11. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в жидком и сухом экстрактах растительной композиции / М. А. Джавахян, М. Г. Токарева, Н. Б. Фадеев [и др.] // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2021. – № 2. – С. 12–22. – DOI: 10.34907/JPQAI.2021.26.35.003.

12. Модификация методики количественного определения флавоноидов в траве золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) / А. Н. Кузьменко, О. В. Нестерова, Ф. Ш. Сулейманова [и др.] // Вестник Московского университета. Сер. 2. Химия. – 2019. – Т. 60, №. 1. – С. 49–54. – DOI:10.3103/s0027131419010061.

13. Проценко, М. А. Разработка и валидация методики количественного анализа фенольных соединений и флавоноидов в экстрактах из высших грибов / М. А. Проценко, М. А. Костина // Химия растительного сырья. – 2015. – № 3. – С. 117–126. – DOI: 10.14258/jcprm.201503822.

14. Марахова, А. И. Применение принципа сквозной стандартизации в анализе флавоноидов травы пустырника и препаратов на его основе / А. И. Марахова, А. А. Сорокина, Я. М. Станишевский // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2016. – № 1. – С. 150–154.

15. Производство лекарственных средств. Валидация методик испытаний = Вытворчасць лекавых сродкаў. Валідацыя методык выпрабаванняў : ТКП 432-2012 (02041). – Введ. впервые. – Минск : Департамент фармацевт. пром-сти М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 2012. – 18 с.

16. Валидация методики количественного определения флавоноидов в траве бодяка полевого / С. Р. Шамсутдинова, К.А. Пупыкина, Е. В. Красюк, Л. В. Старцева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т. 24, № 6. – С. 36–41. – DOI: 10.29296/25877313-2021-06-05.

REFERENCES

1. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products. Assessment report

on *Chamaemelum nobile* (L.) All., flos. London, United Kingdom; 2010. p. 1–19

2. Adamtsevich NIu, Boltovskii VS, Titok VV. Effect of extraction parameters on the yield of flavonoids from the leaves of the common sage (*Lithospermum* officinale L.). Vestsi Natsyianal'nai akademii navuk Belarusi. Seryia biialagichnykh navuk. 2020;65(4):402–11. doi: 10.29235/1029-8940-2020-65-4-402-411. (In Russ.)

3. Alvarez-Martínez FJ, Barrajon-Catalan E, Encinar JA, Rodriguez-Diaz JC, Micol V. Antimicrobial Capacity of Plant Polyphenols against Gram-positive Bacteria: A Comprehensive Review. Curr Med Chem. 2020;27(15):2576–606. doi:10.2174/0929867325666181008115650

4. Aleksashina SA, Makarova NV. A comparative study of the antioxidant activity of phenolic compounds and flavonoids of small-leaved linden flowers (*TiIia cordata Mill.*), common sage (*Salvia officinalis* L.), sweet clover (*Melilotus officinalis* L.), currant leaves (Ribes nigrum folia), wild strawberry (*Fragaria vesca* L.), and grapes (*Vitis labrusca*) growing in the Samara region. Khimiia rastitel'nogo syr'ia. 2019;(3):153–9. doi:10.14258/jcprm.2019034623. (In Russ.)

5. Bhatia N, Singh A, Sharma R, Singh A, Soni V, Singh G, et al. Evaluation of burn wound healing potential of aqueous extract of *Morus alba* based cream in rats. The Journal of Phytopharmacology. 2014;3(6):378–83. doi:10.31254/phyto.2014.3601

6. Bhatia N, Kaur G, Soni V, Kataria J, Dhawan RK. Evaluation of the wound healing potential of isoquercetin-based cream on scald burn injury in rats. Burns Trauma. 2016;4:1–8. doi:10.1186/s41038-016-0032-1

7. Pang Y, Zhang Y, Huang L, Xu L, Wang K, Wang D, et al. Effects and mechanisms of total flavonoids from *Blumea balsamifera* (L.) DC. on skin woundin rats. lnt J Mol Sci. 2017;18(12):2766–78. doi:10.3390/ijms18122766

8. Klimovich AA, Adamtsevich NIu, Ignatovets OS. Determination of optimal parameters for flavonoid extraction from the flower mass of *Chamaemelum nobile* (L.) All. Vestnik farmatsii. 2023;(3):30–8. doi: 10.52540/2074-9457.2023.3.30. (In Russ.)

9. Zverev IaF. Flavonoids through the eyes of a pharmacologist. Features and challenges of pharmacokinetics. Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii. 2017;15(2):4–11. doi: 10.17816/RCF1524-11. (In Russ.)

10. Adamtsevich NIu, Zakrzhevskaia EI, Fes'kova EV, Leont'ev VN, Titok VV. Development and validation of a method for the quantitative determination of flavonoids in the leaves of *Lithospermum officinale* (*Boraginaceae*). Rastitel'nye resursy. 2022;58(1):100–8. doi: 10.31857/S0033994622010034. (In Russ.)

11. Dzhavakhian MA, Tokareva MG, Fadeev NB, Dul VN, Prozhogina IuE, Kalenikova EI. Development and validation of a method for quantitative determination of the amount of flavonoids in liquid and dry extracts of a plant composition. Voprosy obespecheniia kachestva lekarstvennykh sredstv. 2021;(2):12–22. doi: 10.34907/JPQAI.2021.26.35.003. (In Russ.)

12. Kuz'menko AN, Nesterova OV, Suleimanova FSh, Matiushin AA, Krasniuk II. Modification of the method for quantitative determination of flavonoids in the herb of Canadian goldenrod (*Solidago canadensis* L.). Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriia 2. Khimiia. 2019;60(1):49–54. doi: 10.3103/s0027131419010061. (In Russ.)

13. Protsenko MA, Kostina MA. Development and validation of a method for quantitative analysis of phenolic compounds and flavonoids in extracts from higher mushrooms. Khimiia rastitel'nogo syr'ia. 2015;(3):117–26. doi: 10.14258/jcprm.201503822. (In Russ.)

14. Marakhova AI, Sorokina AA, Stanishevskii IaM. Application of the principle of end-to-end standardization in the analysis of flavonoids of motherwort herb and preparations based on it. Razrabotka i registratsiia lekarstvennykh sredstv. 2016;(1):150–4. (In Russ.)

15. Pharmaceutical Manufacturing. Validation of Test Methods : TKP 432-2012 (02041). Vved vpervye. Minsk, RB: Departament farmatsevt prom-sti M-va zdravookhraneniia Resp Belarus'; 2012. 18 s. (In Russ)

16. Shamsutdinova SR, Pupykina KA, Krasiuk EV, Startseva LV. Validation of a method for the quantitative determination of flavonoids in Cirsium arvense herb. Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii. 2021;24(6):36–41. doi: 10.29296/25877313-2021-06-05. (In Russ.)

Адрес для корреспонденции:
220006, Республика Беларусь,
г. Минск, ул. Свердлова, 13 а,
Учреждение образования
«Белорусский государственный
технологический университет»,
тел.:+ 375 44 771 81 61,
e-mail: anechkaf027@gmail.com,
Климович А.А.

Поступила 10.06.2025 г.