Оригинальная статья / Research article

УДК 615.322

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2026

Check for updates

CC BY 4.0

Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве вербейника обыкновенного (*Lysimachia vulgaris* L.)

Е. М. Крипак✉, **Е. В. Жохова**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, литера А

✉ **Контактное лицо:** Крипак Екатерина Максимовна. **E-mail:** katunhik@gmail.com

ORCID: Е. М. Крипак – https://orcid.org/0000-0002-3551-5632;
Е. В. Жохова – https://orcid.org/0000-0002-9763-096X.

Статья поступила: 31.01.2025 **Статья принята в печать:** 03.10.2025 **Статья опубликована:** 03.10.2025

Резюме

Введение. Исследование качественного и количественного состава растений и выявление перспективных лекарственных видов – одна из важнейших задач современной фармакогнозии. Вербейник обыкновенный (*Lysimachia vulgaris* L.) сем. первоцветных (*Primulaceae* Batsch ex Borkh.) – многолетнее травянистое растение, для надземной части которого основной группой действующих веществ являются фенольные соединения. *L. vulgaris* распространен в России практически повсеместно, известно о его применении в традиционной медицине, а также о видах биологической активности, рассмотренных в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, но поиск научной литературы в отечественном сегменте не выявил достаточной информации о количественном содержании биологически активных веществ (далее – БАВ).

Цель. Разработка и валидация методики оценки количественного содержания суммы флавоноидов в траве вербейника обыкновенного (*L. vulgaris*) в пересчете на рутин методом спектрофотометрии.

Материалы и методы. В качестве объекта использовали спиртовые извлечения из надземной части *L. vulgaris*, заготовленного в период цветения в Ленинградской области. Количественное определение проводили методом спектрофотометрии. Предложенную методику валидировали в соответствии с ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» Государственной фармакопеи РФ XV издания по показателям «специфичность», «линейность», «аналитическая область», «повторяемость», «прецизионность» и «правильность».

Результаты и обсуждение. Для методики количественного определения флавоноидов в траве *L. vulgaris* методом спектрофотометрии в качестве стандартного образца был предложен рутин. Было установлено, что оптимальное извлечение флавоноидов из травы *L. vulgaris* достигается путем использования однократной экстракции спиртом этиловым 70%-м в течение 30 мин при соотношении «сырье : экстрагент» 1 : 100 и измельченности сырья 2–1 мм. В качестве комплексообразователя был предложен раствор алюминия хлорида 1%-й спиртовой, были подобраны условия комплексообразования (аликвота раствора алюминия хлорида 1%-го – 2 мл, время комплексообразования – 30 мин). Методика отвечает требованиям валидационных характеристик. По разработанной методике было установлено, что сумма флавоноидов в траве *L. vulgaris*, заготовленного в Ленинградской области, составляет 2,97 ± 0,05 % в пересчете на рутин.

Заключение. Разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов в траве вербейника обыкновенного (*L. vulgaris*) методом спектрофотометрии в пересчете на рутин.

Ключевые слова: флавоноиды, дифференциальная спектрофотометрия, вербейник обыкновенный, *Lysimachia vulgaris* L., валидация

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Е. М. Крипак и Е. В. Жохова разработали и спланировали исследование. Е. М. Крипак провела экспериментальную часть. Е. В. Жохова провела исследование методики по показателю «внутрилабораторная прецизионность» в качестве второго аналитика. Е. М. Крипак и Е. В. Жохова подготовили статью к публикации.

© Крипак Е. М., Жохова Е. В., 2025
© Kripak E. M., Zhokhova E. V., 2025

Для цитирования: Крипак Е. М., Жохова Е. В. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве вербейника обыкновенного (*Lysimachia vulgaris L.*). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4). https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2026

Development and validation of a method for quantitative determination of the flavonoid content in the herb of yellow loosestrife (*Lysimachia vulgaris* L.)

Ekaterina M. Kripak✉, Elena V. Zhokhova

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Ekaterina M. Kripak. **E-mail:** katunhik@gmail.com

ORCID: Ekaterina M. Kripak – https://orcid.org/0000-0002-3551-5632;
Elena V. Zhokhova – https://orcid.org/0000-0002-9763-096X.

Received: 31.01.2025 **Accepted:** 03.10.2025 **Published:** 03.10.2025

Abstract

Introduction. The study of the qualitative and quantitative composition of plants and the identification of promising medicinal species is one of the most important tasks of modern pharmacognosy. Yellow loosestrife (*Lysimachia vulgaris* L.) of the *Primulaceae* family is a perennial herbaceous plant. The main group of active substances in the herb of *L. vulgaris* are phenolic compounds. *L. vulgaris* is widely distributed in Russia, is known in traditional medicine, its biological activities have been examined *in vitro* and *in vivo* experiments. A search of scientific literature in the Russian segment did not reveal sufficient information on the quantitative content of biologically active substances.

Aim. Development and validation of an analytical procedure for assessing the quantitative content of flavonoids in the herb of yellow loosestrife (*L. vulgaris*) in terms of rutin using spectrophotometry.

Materials and methods. The object of the study was alcohol extracts from the aerial part of *L. vulgaris*, harvested during the flowering period in the Leningrad region. Quantitative determination was carried out by spectrophotometry. The proposed analytical procedure was validated in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia XV in terms of specificity, linearity, range, repeatability (intra-assay precision), precision and accuracy (trueness).

Results and discussion. For the proposed analytical procedure, rutin was proposed as a standard sample. It was found that the maximum extraction of flavonoids from the herb of *L. vulgaris* is achieved by using a single extraction with 70 % ethyl alcohol for 30 min at a raw material : extractant ratio of 1 : 100 and a raw material grinding of 2–1 mm. A 1 % alcohol solution of aluminum chloride was proposed as a complexing agent, and the complexation conditions were selected (aliquot of aluminum chloride 1 % solution 2 ml, complexation time 30 min). The analytical procedure meets the requirements of the validation characteristics. According to the developed method, it was found that the amount of flavonoids in the herb of *L. vulgaris*, harvested in the Leningrad region, is 2,97 ± 0,05 % expressed in rutin.

Conclusion. A method for the quantitative determination of the flavonoid content in the herb of yellow loosestrife (*L. vulgaris*) by spectrophotometry expressed in rutin has been developed and validated.

Keywords: flavonoids, differential spectrophotometry, yellow loosestrife, *Lysimachia vulgaris* L., validation

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Ekaterina M. Kripak and Elena V. Zhokhova developed and planned the study, Ekaterina M. Kripak conducted the experimental part, Elena V. Zhokhova conducted a study of the methodology for the precision as a second analyst. Ekaterina M. Kripak and Elena V. Zhokhova prepared the article for publication.

For citation: Kripak E. M., Zhokhova E. V. Development and validation of a method for quantitative determination of the flavonoid content in the herb of yellow loosestrife (*Lysimachia vulgaris* L.). *Drug development & registration*. 2025;14(4). (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2026

ВВЕДЕНИЕ

Изучение перспективных видов растений, находивших применение в народной медицине, и методов их стандартизации в настоящее время остается одной из основных задач фармакогнозии. Большинство исследований фармакологических свойств *L. vulgaris* были проведены зарубежными исследователями [1, 2]. Была установлена антибактериальная активность этанольных и ацетоновых экстрактов надземных частей *L. vulgaris* в отношении грамположительных бактерий (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus*

aureus и *Staphylococcus epidermidis*) [3]. Для метанольных, водных и этанольных экстрактов надземной части *L. vulgaris* была определена антиоксидантная активность (в отношении DPPH• и ABTS•+) [4–6].

Кроме этого, для спиртового экстракта *L. vulgaris* var. *davurica* были выявлены гепатопротекторные свойства на модели неалкогольного стеатогепатита печени у мышей. Определено, что при приеме экстракта *L. vulgaris* var. *davurica* в сыворотке крови снижаются уровни ферментов аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы – маркеров повреждения печени, а биохимический анализ тканей печени показал снижение уровня малондиальдегида, который известен как маркер окислительного стресса. Теми же авторами установлено, что при приеме экстракта *L. vulgaris* var. *davurica* в тканях печени больных мышей увеличивается экспрессия белков NRF2 и HO-1, снижается экспрессия мРНК MCP-1 и ICAM-1, что свидетельствует об уменьшении окислительного стресса и активации антиоксидантных систем; снижается экспрессия белков TGFβ, Smad2/3, p-Smad2/3, Smad4, MMP2 и α-SMA и экспрессия мРНК α-SMA и COL3A1, связанных с фиброзом печени [7].

Исследование модели неалкогольной жировой болезни печени у мышей показало, что экстракт *L. vulgaris* снижает: накопление липидов в подкожной клетчатке и печени; уровни АЛТ, АСТ, глюкозы и триглицеридов в сыворотке крови; экспрессию липогенных белков LXRβ, SREBP-1, ACC, FAS и SCD1 в ткани печени [8].

Для надземной части *L. vulgaris* характерны разные группы БАВ: флавоноиды (кверцетин-3-O-β-D-рутинозид, кемпферол, мирицетин, апигенин, лютеолин, кверцетин, лютеолин-7-O-β-D-глюкозид, кемпферол-3-O-β-D-глюкопиранозид, мирицетин-3-O-β-D-рутинозид, кемпферол-3-O-β-D-рутинозид, кверцетин-3-O-β-D-глюкопиранозид, мирицетин-3-O-β-D-глюкопиранозид) [3, 4, 6, 9], кумарин [3], фенольные кислоты (кофейная, хлорогеновая, галловая, *p*-кумаровая, феруловая) [3, 7], лигнаны (пинорезинол) [8], дубильные вещества [4], бензофураны (лолиолид) [8]. Известно, что флавоноиды являются хорошими природными антиоксидантами. Содержание фенольных соединений, в частности флавоноидов, в экстрактах положительно коррелирует со способностью удалять свободные радикалы [10–14], накапливающиеся в избытке во время окислительного стресса при воспалении и повреждающие клетки [15–17]. Учитывая большую роль воспалительных реакций в развитии многих патологий, изучение сырья, содержащего флавоноиды, и его стандартизация являются актуальными задачами для фармакогнозии [18–20].

Цель работы – валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве вербейника обыкновенного (*L. vulgaris*) в пересчете на рутин методом спектрофотометрии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали траву *L. vulgaris*, заготовленную в фазе цветения в Ленинградской области (Всеволожский район, окрестности д. Каменка, суходольный луг) в 2021 г.

В процессе исследования использовали реактивы: хлорида алюминия гексагидрат (ч.д.а., АО «ВЕКТОН», Россия), спирт этиловый (ч.д.а., Россия), рутин – стандартный образец (СО), содержание рутина – 99,14 % (серия 101022, годен до 10.10.2025 г., ООО «Геофарма», Россия), деионизированная вода (II класс чистоты). Количественное определение проводили методом спектрофотометрии на приборе СФ-2000 (ЗАО «ОКБ Спектр», Россия).

Валидацию методики осуществляли согласно ОФС.1.1.0012 Государственной фармакопеи РФ XV издания и решению Коллегии Евразийской экономической комиссии № 113 от 17.07.18. Влажность определяли согласно ОФС.1.5.3.0007. Статистическую обработку данных осуществляли в соответствии с ОФС.1.1.0013.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения общего содержания флавоноидов в траве *L. vulgaris* нами был предложен быстрый и доступный метод спектрофотометрии, основанный на способности флавоноидов образовывать хелатные комплексы с ионами металлов. Обработка растительных экстрактов раствором $AlCl_3$ приводит к появлению новой полосы в спектре поглощения в области 400–450 нм. Данный метод позволяет определить флавоноиды, имеющие кето-группу в положении C_4, гидроксильные группы в положениях C_3 (B-кольцо), C_5 (A-кольцо), $C_{3'}$ и $C_{4'}$ (C-кольцо), двойную связь в положении C_2-C_3 (флавоны, флавонолы, изофлавоны) [21–24]; известно, что многие вторичные метаболиты травы *L. vulgaris* имеют данную структуру. В экстракте в значительном количестве присутствует рутин [9], который был предложен нами в качестве стандарта в виде 0,02%-го раствора. Спектр поглощения 70%-го этанольного извлечения *L. vulgaris* после реакции с $AlCl_3$ 1%-го имел максимум поглощения при длине волны 411 ± 2 нм, что соответствует максимуму поглощения продуктов реакции 0,02%-го СО рутина с 1%-м хлоридом алюминия (рисунок 1).

Для более полного извлечения флавоноидов были подобраны оптимальные условия экстракции [25–30].

Для количественной оценки флавоноидов в качестве экстрагента используют этанол в концентрации от 50 %, нами был исследован выход флавоноидов при использовании этанола 40, 70 и 90 %. В настоящем исследовании наибольший выход флавоноидов наблюдался при использовании этанола 70 %.

Экстракцию сырья проводили на кипящей водяной бане с обратным холодильником, как описано в фармакопейных статьях [31, 32] на растительное сырье, содержащее флавоноиды. Применение темпера-

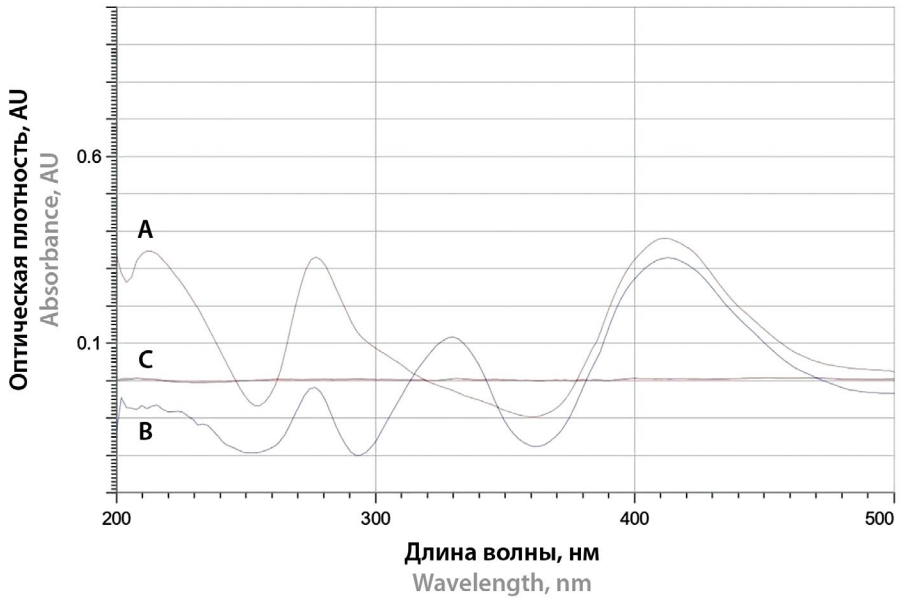

Рисунок 1. Спектры поглощения раствора СО рутина (A), извлечения из травы *L. vulgaris* (B) с раствором алюминия хлорида 1%-го, раствора плацебо (C)

Figure 1. Absorption spectra of rutin RS (A) and extract from *L. vulgaris* herb (B) with 1 % aluminum chloride solution, placebo solution (C)

турного режима оправданно, поскольку достоверно известно, что нагревание увеличивает скорость экстракции. Время нагревания в зависимости от модификации методики для конкретного сырья варьируется от 10 мин до 3,5 ч. Чаще всего в фармакопейных методиках встречается 60 мин, для ускорения аналитического процесса были проведены испытания и для 30 мин. При времени экстракции 30 мин выход флавоноидов из травы *L. vulgaris* был выше, чем при 60 мин.

Соотношение «сырье : экстрагент» в нормативной документации варьируется от 1 : 10 до 1 : 200, наиболее часто встречаются соотношения 1 : 30, 1 : 50 и 1 : 100, которые и были исследованы в работе, при этом больший выход наблюдался при соотношении 1 : 100.

Влияние измельченности сырья на экстракцию оценивали для частиц размером 3,0–2,0, 2,0–1,0, 1,0–0,5, 0,5–0,2 и менее 0,2 мм. Наибольшая степень экстракции наблюдалась при размере частиц 2,0–1,0 мм. При этом использование частиц с размером менее 1,0 мм увеличивало продолжительность анализа на этапе фильтрации.

При оценке кратности экстракции проверяют увеличение выхода флавоноидов при увеличении циклов экстракции. В данном исследовании при применении двухкратной экстракции выход флавоноидов снижался.

Установлено, что бóльшая степень извлечения флавоноидов в пересчете на рутин достигается при однократной экстракции спиртом этиловым 70 % в соотношении «сырье : экстрагент» 1 : 100, времени экстракции 30 мин и измельченности сырья 2,0–1,0 мм (таблица 1).

Как правило, для реакции комплексообразования используют 1–5 мл 2%-го раствора алюминия хлорида в 96%-м этаноле при времени комплексообразования 30–40 мин [31–32]. Нами было оценено влияние объема аликвоты (1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 мл) 1%-го алюминия хлорида и времени реакции (15, 30, 45, 60 мин) на реакцию комплексообразования и, как следствие, на итоговый выход флавоноидов.

Оптимальные условия комплексообразования достигались при использовании 2 мл спиртового раствора алюминия хлорида 1%-го при времени комплексообразования 30 мин (таблица 2).

Исходя из полученных результатов, мы предложили следующую методику количественного определения флавоноидов в траве *L. vulgaris* в пересчете на рутин.

Приготовление раствора СО рутина. Около 0,02 г (точная навеска) рутина, предварительно высушенного при 130–135 °С в течение 3 ч, помещают в мерную колбу объемом 100 мл и растворяют в 85 мл спирта этилового 96 % при нагревании на водяной бане, охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают (раствор А СО рутина).

2 мл раствора А СО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 1 % и дово-

Таблица 1. **Факторы, влияющие на полноту экстракции флавоноидов из травы *L. vulgaris***

Table 1. **Factors affecting the completeness of the extraction of flavonoids from *L. vulgaris* herb**

Экстрагент Extraction solvent	Время экстракции, мин Extraction time, min	Кратность экстракции Number of extractions	Соотношение «сырье : экстрагент» Raw material : solvent ratio	Измельченность сырья, мм Raw material fineness, mm	Содержание суммы флавоноидов, % Total flavonoid content, %
Спирт этиловый 40 % Ethyl alcohol, 40 %	30	1	1 : 30	2,0–1,0	1,50 ± 0,06
Спирт этиловый 40 % Ethyl alcohol, 40 %	30	1	1 : 50	2,0–1,0	1,66 ± 0,08
Спирт этиловый 40 % Ethyl alcohol, 40 %	30	1	1 : 100	2,0–1,0	1,83 ± 0,08
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	30	1	1 : 100	менее 1,0 less than 1,0 mm	2,80 ± 0,10
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	30	1	1 : 100	3,0–2,0	1,38 ± 0,06
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	30	1	1 : 30	2,0–1,0	1,78 ± 0,06
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	30	1	1 : 50	2,0–1,0	2,12 ± 0,09
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	**30**	**1**	**1 : 100**	**2,0–1,0**	**2,82 ± 0,10**
Спирт этиловый 90 % Ethyl alcohol, 90 %	30	1	1 : 30	2,0–1,0	1,25 ± 0,06
Спирт этиловый 90 % Ethyl alcohol, 90 %	30	1	1 : 50	2,0–1,0	1,98 ± 0,09
Спирт этиловый 90 % Ethyl alcohol, 90 %	30	1	1 : 100	2,0–1,0	2,14 ± 0,10
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	30 + 30	2	1 : 30	2,0–1,0	2,20 ± 0,10
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	30 + 30	2	1 : 50	2,0–1,0	2,25 ± 0,11
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	60	1	1 : 50	2,0–1,0	2,42 ± 0,12

дят спиртом этиловым 96 % до метки (раствор Б СО рутина).

Около 0,5 г (точная навеска) исследуемого сырья вербейника обыкновенного с размером частиц, проходящих сквозь сито 2 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта этилового 70 % и нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником 30 мин. Полученное извлечение охлаждают до комнатной температуры, фильтруют в мерную колбу объемом 50 мл, фильтр промывают спиртом этиловым 70 %, доводят объем до метки тем же растворителем (раствор А испытуемого раствора).

2 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 1 % и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 30 мин на спектрофотометре при длине волны 411 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора А испытуемого раствора, доведенного спиртом этиловым 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина в таких же условиях. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора А СО рутина, доведенного спиртом этиловым 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Таблица 2. Факторы, влияющие на реакцию комплексообразования флавоноидов травы *L. vulgaris* с 1%-м спиртовым раствором хлорида алюминия

Table 2. Factors influencing the reaction of complexation of flavonoids of the *L. vulgaris* herb with a 1 % alcohol solution of aluminum chloride

Аликвота раствора алюминия хлорида 1%-го, мл Aliquot of 1 % aluminum chloride solution, ml	Время комплексообразования, мин Complexation time, min	Содержание суммы флавоноидов, % Total flavonoid content, %
1	15	2,63 ± 0,05
	30	2,83 ± 0,06
	45	2,72 ± 0,03
	60	2,70 ± 0,08
1,5	15	2,92 ± 0,05
	30	2,95 ± 0,03
	45	2,99 ± 0,02
	60	2,68 ± 0,06
2	15	3,01 ± 0,04
	30	**3,02 ± 0,02**
	45	3,02 ± 0,05
	60	2,73 ± 0,03
2,5	15	3,00 ± 0,02
	30	2,99 ± 0,06
	45	3,01 ± 0,03
	60	2,74 ± 0,02
3	15	2,35 ± 0,01
	30	2,36 ± 0,03
	45	2,40 ± 0,08
	60	1,95 ± 0,10

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

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 2 \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 2 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100 \cdot (100 - W)},$$

где A – оптическая плотность раствора Б исследуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора Б СО рутина; a – навеска сырья, г; a_0 – навеска СО рутина, г; P – содержание основного вещества в СО рутина, %; W – абсолютная влажность сырья, %.

Чтобы убедиться, что методика гарантирует достоверные результаты, была проведена ее валидация. Специфичность достигается путем использования дифференциальной спектрофотометрии, в основе которой лежит реакция флавоноидов с хлоридом алюминия, при этом в спектре поглощения извлечения из травы *L. vulgaris* происходит батохромный сдвиг. Дифференциальные спектры продуктов реакции флавоноидов травы *L. vulgaris* и СО рутина с раствором 1%-го хлорида алюминия имеют одинаковый максимум при длине волны 411 ± 2 нм. При этом в спектре «плацебо» не наблюдается максимумов (см. рисунок 1).

Линейность изучали, измеряя пять проб с различной массой навески (0,2548; 0,3055; 0,4025; 0,5096; 0,7080 г), критерием приемлемости считается коэффициент корреляции $r \geq 0{,}99$, что говорит о линейной зависимости оптической плотности от концентрации флавоноидов в извлечении. При этом $|a - 0| \leq \Delta a$, что говорит об отсутствии систематической ошибки (таблица 3). Линейная зависимость соблюдается в интервале концентраций 50–140 % от номинального значения определяемой величины (0,5 г). Интервал 50–140 % составляет аналитическую область методики (рисунок 2) и соответствует требуемым значениям 80–120 %.

Таблица 3. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *L. vulgaris* по параметру «линейность»

Table 3. Validation of the method for quantitative determination of the total flavonoid content in the *L. vulgaris* herb by the linearity parameter

Характеристики линейной зависимости Characteristics of linearity	Значения Parameter values
Тангенс угла наклона прямой, b Linear slope, b	1,4995
Свободный член линейной зависимости, a Free term of liner dependence, a	0,0645
Стандартное отклонение линейной зависимости, S_o ($P = 95$ %; $f = 3$) Standard deviation of liner dependence, S_o ($P = 95$ %; $f = 3$)	0,024899
Стандартное отклонение свободного члена a, S_a ($P = 95$ %; $f = 3$) Standard deviation of free term a, S_a ($P = 95$ %; $f = 3$)	0,0672591
Доверительный интервал свободного члена a, Δa ($P = 95$ %; $f = 3$) Confidence interval of free term a, Δa ($P = 95$ %; $f = 3$)	0,2139

Повторяемость (сходимость) определяли на шести образцах травы *L. vulgaris* с содержанием суммы флавоноидов, близким к номинальному, критерием приемлемости служит величина стандартного отклонения RSD, которая не должна превышать 2 %, что говорит о воспроизводимости результатов (таблица 4).

Таблица 4. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *L. vulgaris* по параметру «повторяемость»

Table 4. Validation of the method for quantitative determination of the total flavonoid content in the *L. vulgaris* herb by the repeatability parameter

Навеска сырья, г Mass of the sample, g	Содержание суммы флавоноидов, % Total flavonoid content, %	Метрологические характеристики ($p = 0,05$) Metrological characteristics ($p = 0,05$)
0,4963	3,01	$\bar{x} = 2,97$ $S = 0,045387$ $\bar{x} \pm \Delta\bar{x} = 2,97 \pm 0,05$ % $\bar{\varepsilon} = 1,68$ % $\varepsilon = 3,92$ % RSD = 1,53 %
0,5194	2,98	
0,5111	3,03	
0,5052	2,93	
0,5019	2,92	
0,5054	2,94	

Примечание. $\bar{x}$ – среднее значение; S – стандартное отклонение; $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ – доверительный интервал среднего значения; $\bar{\varepsilon}$ – относительная ошибка среднего результата; ε – относительная ошибка отдельного результата; RSD – относительное стандартное отклонение.

Note. $\bar{x}$ – mean value; S – standard deviation; $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ – confidence interval of mean value; $\bar{\varepsilon}$ – relative error of the mean result; ε – relative error of a single result; RSD – relative standard deviation.

Определение внутрилабораторной (промежуточной) прецизионности проводилось двумя аналитиками для двух образцов в трех повторностях для каждого в течение двух разных дней. Относительное стандартное отклонение не превышает допустимые 2 % (таблица 5).

Для оценки правильности методики были изучены образцы трех разных навесок в трех повторностях с добавлением известного количества СО рутина. Критерием приемлемости служит величина открываемости (Z, %), среднее значение которой должно быть в пределах 98–102 % (таблица 6). Установлено, что условие $|Z_{ср.} - 100| \le \Delta\bar{x}$ соблюдается для исследованных образцов.

Таблица 5. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *L. vulgaris* по параметру «внутрилабораторная прецизионность»

Table 5. Validation of the method for quantitative determination of the total flavonoid content in the *L. vulgaris* herb by the parameter intralaboratory precision

Навеска сырья, г Mass of the sample, g	Аналитик Analyst	День эксперимента Date of experiment	№ п/п Serial number	Содержание суммы флавоноидов, % Total flavonoid content, %	Метрологические характеристики ($p = 0,05$) Metrological characteristics ($p = 0,05$)
0,5009	1	1	1	2,98	$\bar{x} = 2,98$ $S_1^2 = 0,000540$ $S_1 = 0,023238$ $\bar{x} \pm \Delta\bar{x} = 2,98 \pm 0,02$ % RSD = 0,78 %
	1	1	2	2,96	
	1	1	3	2,95	
0,5013	1	1	1	3,01	
	1	1	2	2,96	
	1	1	3	2,99	
0,5025	2	2	1	3,00	$\bar{x} = 2,97$ $S_2^2 = 0,000780$ $S_2 = 0,027928$ $\bar{x} \pm \Delta\bar{x} = 2,97 \pm 0,03$ % RSD = 0,94 %
	2	2	2	2,96	
	2	2	3	2,94	
0,5017	2	2	1	2,93	
	2	2	2	2,97	
	2	2	3	2,99	

Примечание.

$F_{выч.}(S^2_{max}/S^2_{min}) = 1,44 < F$ (95 %; 5; 5)

$\bar{x} = 2,97$

$S^2 = 0,000660$

$$S^2_{выч.} = \frac{S^2 \cdot (n_1 + n_2)}{n_1 \cdot n_2} = 0,000220 \; (n_1 = 4; n_2 = 6)$$

$$S_{выч.} = \sqrt{S^2_{выч.}} = 0,014832$$

$t_{выч.} = 0,67 < t$ (95 %; 10) – различия результатов статистически незначимы

RSD = 0,87 %.

Note.

$F_{calc.}(S^2_{max}/S^2_{min}) = 1,44 < F$ (95 %; 5; 5)

$\bar{x} = 2,97$

$S^2 = 0,000660$

$$S^2_{calc.} = \frac{S^2 \cdot (n_1 + n_2)}{n_1 \cdot n_2} = 0,000220 \; (n_1 = 4; n_2 = 6)$$

$$S_{calc.} = \sqrt{S^2_{calc.}} = 0,014832$$

$t_{calc.} = 0,67 < t$ (95 %; 10) – the differences in the results are statistically insignificant

RSD = 0,87 %.

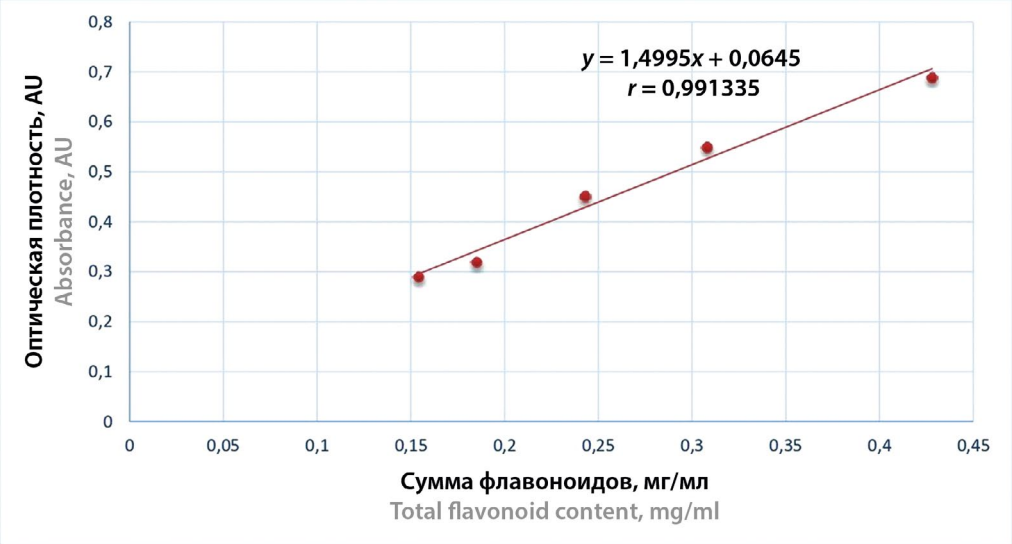

Рисунок 2. **Градуировочный график зависимости величины оптической плотности от суммы флавоноидов в траве *L. vulgaris***

Figure 2. **Calibration graph of the dependence of the optical density on the total flavonoid content in the *L. vulgaris* herb**

Таблица 6. **Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *L. vulgaris* по параметру «правильность»**

Table 6. **Validation of the method for quantitative determination of the total flavonoid content in the *L. vulgaris* herb by the parameter accuracy**

Навеска сырья, г Mass of the sample, g	Рассчитанная сумма флавоноидов, мг Calculated total flavonoid content, mg	Добавлено СО рутина, мг Adding rutin RS, mg	Ожидаемое содержание, мг Calculated value, mg	Полученное содержание, мг Experimental value, mg	Открываемость, Z, % Recovery, Z, %	Метрологические характеристики ($p = 0,05$) Metrological characteristics ($p = 0,05$)
0,4978	0,5914	0,1005	0,6919	0,6848	98,98	S = 1,589623 $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ = 101,04 ± 1,22 % RSD = 1,57 % $\bar{\varepsilon}$ = 1,21 % ε = 3,63 %
		0,2010	0,7924	0,8086	102,05	
		0,3015	0,8929	0,9193	102,96	
0,5194	0,6170	0,1005	0,7175	0,7163	99,83	
		0,2010	0,8180	0,8278	101,10	
		0,3015	0,9185	0,9326	101,54	
0,5042	0,5989	0,1005	0,6994	0,6974	99,72	
		0,2010	0,7999	0,8093	101,18	
		0,3015	0,9004	0,9286	103,13	

Таким образом, сумма флавоноидов в пересчете на рутин в траве *L. vulgaris* составляет 2,97 ± 0,05 %. Полученные данные согласуются с результатами других авторов, определявших содержание суммы флавоноидов в сырье *L. vulgaris* методом спектрофотометрии (таблица 7).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Предложена методика количественного определения суммы флавоноидов в траве *L. vulgaris* методом дифференциальной спектрофотометрии. Подобран стандартный образец для проведения

Таблица 7. Литературные данные о содержании суммы флавоноидов в *L. vulgaris*

Table 7. Literary data on the total flavonoid content in *L. vulgaris*

Место заготовки Harvesting area	**Морфологическая часть растения** Morphological part of a plant	**Содержание суммы флавоноидов** Total flavonoid content
Россия, Астраханская область [33] Russia, Astrakhan region [33]	Листья Leaves	2,9 % в пересчете на лютеолин-7-гликозид 2,9 % expressed in luteolin-7-glycoside
Венгрия, национальный парк Бюкк [4] Hungary, Bükk National Park [4]	Трава Herb	0,55 ± 0,01 % в пересчете на гиперозид 0,55 ± 0,01 % expressed in hyperoside
	Листья Leaves	1,14 ± 0,04 % в пересчете на гиперозид 1,14 ± 0,04 % expressed in hyperoside
	Стебель Stem	0,10 ± 0,02 % в пересчете на гиперозид 0,10 ± 0,02 % expressed in hyperoside
Румыния, г. Клуж-Напока [34] Romania, Cluj-Napoca [34]	Трава Herb	2,64 ± 0,1 % в пересчете на рутин 2,64 ± 0,1 % expressed in rutin

анализа – рутин, аналитическая длина волны – 411 ± 2 нм.

2. Подобраны условия извлечения флавоноидов из травы *L. vulgaris*. Среди факторов, влияющих на экстракцию, рассмотрены: тип экстрагента, время экстракции, кратность экстракции, соотношение «сырье:экстрагент», измельченность сырья.
3. Подобраны условия реакции комплексообразования: количество комплексообразователя, время комплексообразования.
4. Доказано, что методика удовлетворяет требованиям валидности по показателям «специфичность», «линейность», «аналитическая область», «повторяемость», «внутрилабораторная прецизионность», «правильность».
5. Установлено, что сумма флавоноидов в пересчете на рутин в траве *L. vulgaris*, собранной в Ленинградской области, составляет 2,97 ± 0,05 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Podolak I., Strzałka M. Qualitative and quantitative LC profile of embelin and rapanone in selected Lysimachia species. *Chromatographia*. 2008;67(5–6):471–475. DOI: 10.1365/s10337-007-0511-4.
2. Podolak I., Elas M., Cieszka K. In vitro antifungal and cytotoxic activity of triterpene saponosides and quinoid pigments from *Lysimachia vulgaris* L. *Phytotherapy Research*. 1998;12:70–73.
3. Yildirim A. B., Guner B., Karakas F. P., Turker A. U. Evaluation of antibacterial, antitumor, antioxidant activities and phenolic constituents of field-grown and in vitro-grown Lysimachia vulgaris L. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*. 2017;14(2):177–187. DOI: 10.21010/ajtcam.v14i2.19.
4. Toth A., Riethmüller E., Alberti A., Végh K., Kery A. Comparative phytochemical screening of phenoloids in Lysimachia species. *European Chemical Bulletin*. 2012;1(1–2):27–30.
5. Toth A., Toth G., Kery A. Polyphenol composition and antioxidant capacity of three *Lysimachia* species. *Natural Product Communications*. 2014;9:1473–1478. DOI: 10.1177/1934578X1400901017.
6. Toth A., Riethmuller E., Vegh K., Alberti A., Beni S., Kery A. Contribution of individual flavonoids in *Lysimachia* species to the antioxidant capacity based on HPLC-DPPH assay. *Natural Product Research*. 2018;32(17):2058–2061. DOI: 10.1080/14786419.2017.1359176.
7. Yang-Ju S., Jung D. S., Shin J. M., Kim M., Yoo G., Nho C. W. Yellow loosestrife (Lysimachia vulgaris var. davurica) ameliorates liver fibrosis in db/db mice with methionine- and choline-deficient diet-induced nonalcoholic steatohepatitis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2021;21(1):44. DOI: 10.1186/s12906-021-03212-6.
8. Kim S. Y., Lee J. Y., Jhin C., Shin J. M., Kim M., Ahn H. R., Yoo G., Son Y. J., Jung S. H., Nho C. W. Reduction of Hepatic Lipogenesis by Loliolide and Pinoresinol from *Lysimachia vulgaris* via Degrading Liver X Receptors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019;67(45):12419–12427. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b01488.
9. Kim H.-Y., Kim C.-E., Oh D.-R., Kim Y., Choi C.-Y., Kim J. Development and Validation of a High-Performance Liquid Chromatography Method to Quantify Marker Compounds in *Lysimachia vulgaris* var. *davurica* and Its Effects in Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome. *Molecules*. 2024;29(7):1489. DOI: 10.3390/molecules29071489.
10. Nurcholis W., Sya'bani Putri D. N., Husnawati H., Aisyah S. I., Priosoeryanto B. P. Total flavonoid content and antioxidant activity of ethanol and ethyl acetate extracts from accessions of *Amomum compactum* fruits. *Annals of Agricultural Sciences*. 2021;66(1):58-62. DOI: 10.1016/j.aoas.2021.04.001.
11. Zeb A., Rahman F. Phenolic profile, total bioactive contents, and antioxidant activity of pear fruits. *Food Chemistry Advances*. 2024;5:100780. DOI: 10.1016/j.focha.2024.100780.
12. Maache S., Elghouizi A., Zbadi L., Soulo N., Nouioura G., Lyoussi B., Elarabi I. Characterization, antioxidant, and antimicrobial activity of two sage species' organic and aqueous extracts from Morocco's Middle Atlas. *Kuwait Journal of Science*. 2025;52(2):100382. DOI: 10.1016/j.kjs.2025.100382.

13. Imtiaz F., Ahmed D., Mohammed O. A., Younas U., Iqbal M. Optimized recovery of phenolic and flavonoid compounds from medicinal plant extracts for enhanced antioxidant activity: A mixture design approach. *Results in Chemistry*. 2025;13:101960. DOI: 10.1016/j.rechem.2024.101960.
14. de Almeida Soares L., Germano A. T., Vitali L., Mazzuti S., Lins de Aquino Santana L. C. Solid-state fermentation as a pre-treatment method for the extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) and jatobá peel (*Hymenaea courbaril* L.). *Food Bioscience*. 2025;63:105716. DOI: 10.1016/j.fbio.2024.105716.
15. Цейликман Н. Э., Лукин А. А. Влияние окислительного стресса на организм человека. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2022;3(117):206–211. DOI: 10.23670/IRJ.2022.117.3.037.
16. Аникин Д. А., Соловьева И. А., Демко И. В., Собко Е. А., Крапошина А. Ю., Гордеева Н. В. Свободнорадикальное окисление как патогенетическое звено метаболического синдрома. *Ожирение и метаболизм*. 2022;19(3):306–316. DOI: 10.14341/omet12804.
17. Олефир Ю. В., Романов Б. К., Кукес В. Г., Сычев Д. А., Прокофьев А. Б., Парфенова О. К., Сидоров Н. Г., Александрова Т. В. Роль окислительного стресса в патогенезе социально значимых заболеваний человека и пути его медикаментозной коррекции. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2021;16(4):450–455. DOI: 10.14300/mnnc.2021.16109.
18. Соколова А. Ю., Полуянов А. М., Бардаков А. И., Сологова С. С., Бобкова Н. В. Выделение, идентификация и количественное определение флавоноидов из цветков клекачки перистой. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(2):155–163. DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-2-1796.
19. Бояршинов В. Д., Зорина Е. В. Разработка параметров стандартизации травы культивируемого вида манжетка мягкая (*Alchemilla mollis* (Buser) Rothm.). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4–1):85–90. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-85-90.
20. Кутателадзе Г. Р., Федосеева Л. М. Исследования по разработке и валидации методики количественного определения флавоноидов в щавеля кислого траве, заготовленной на территории алтайского края. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(2):80–86. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-2-80-86.
21. Nicolescu A., Bunea C. I., Mocan A. Total flavonoid content revised: An overview of past, present, and future determinations in phytochemical analysis. *Analytical Biochemistry*. 2025;700:115794. DOI: 10.1016/j.ab.2025.115794.
22. Xujiang Y., Cuimin H., Xianmei X., Zhike L., Yanfen C. Optimisation study on the flavonoid extraction process from Abrus precatorius leaves and the comparison of total flavonoid content by HPLC and UV. *Journal of Holistic Integrative Pharmacy*. 2023;4(2):119–126. DOI: 10.1016/j.jhip.2023.09.003.
23. Amjad M. S., Talaat A. A., Md Mizanur R., Yousef M. H. Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*. 2021;150:111932. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111932.
24. Bin Mokaizh A. A., Hamid Nour A., Ali G. A. M., Ishmael Ukaegbu C., Faraj Hawege E. Eco-friendly and efficient extraction of phenolic compounds from Commiphora gileadensis bark using microwave-assisted extraction. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2025;142:321–328. DOI: 10.1016/j.jiec.2024.07.038.
25. Liu Y., Wang R., Hu X., Yu C., Wang Z., Zhang L., Liu S., Li C. Optimization of ultrasonic extraction of bioactive components from Alpiniae oxyphyllae Fructus using response surface methodology. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2024;41:100557. DOI: 10.1016/j.jarmap.2024.100557.
26. Zulkifli M. Z. A., Benjamin M. A. Z., Mohd Rosdan M. D. E., Saini A., Rusdi N. A., Awang M. A. Optimisation of yield, flavonoids, and antioxidant activity via ultrasound-assisted extraction of bamboo leaves from Dinochloa sublaevigata S. Dransf. (Wadan) in Sabah, Malaysia. *Advances in Bamboo Science*. 2025;10:100128. DOI: 10.1016/j.bamboo.2025.100128.
27. Rocha G. J. R., Aguiar A. C., Abud C. O. G., Pertuzatti P. B., Sampaio K. A., Paula J. T. Pressurized liquid extraction as a green technique for bioactive compounds recovery from Momordica charantia leaves. *Applied Food Research*. 2025;5(1):100795. DOI: 10.1016/j.afres.2025.100795.
28. Al Hawat L., Alallan L. Estimation of antioxidant and hypolipidemic activities of extracts of *Citrus x aurantium* leaves *in vitro*. *Phytomedicine Plus*. 2025;5(1):100723. DOI: 10.1016/j.phyplu.2024.100723.
29. Ковалёва Н. А., Тринеева О. В., Чувикова И. В., Сливкин А. И. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной методом спектрофотометрии. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(2):216–226. DOI: 10.30895/1991-2919-2023-531.
30. Petrosyan H. R., Nigaryan A. A., Hovhannisyan H. A., Soloyan A. M., Vardapetyan V. V., Martiryan A. I. Evaluation of antioxidant activity and heavy metals content in licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) growing wild in Armenia. *Heliyon*. 2023;9(11):e22442. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e22442.
31. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. М.: Министерство Здравоохранения Российской Федерации; 2018. Т. 4.
32. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. М.: Министерство Здравоохранения Российской Федерации; 2023. Т. 2.
33. Крюкова С. А. Изучение содержания флавоноидов в листьях вербейника обыкновенного, произрастающего на территории Астраханской области. *Инновационные научные исследования*. 2021;6–3(8):7–12. DOI: 10.5281/zenodo.5529051.
34. Benedec D., Hanganu D., Olah. N. K., Mocan A., Vlase L., Raita O., Toma C. C. Comparative Polyphenolic Content and Antioxidant Activities of Two Romanian *Lysimachia* Species. *Revista de Chimie*. 2016;67(2):227–231.

REFERENCES

1. Podolak I., Strzałka M. Qualitative and quantitative LC profile of embelin and rapanone in selected Lysimachia species. *Chromatographia*. 2008;67(5–6):471–475. DOI: 10.1365/s10337-007-0511-4.

2. Podolak I., Elas M., Cieszka K. In vitro antifungal and cytotoxic activity of triterpene saponosides and quinoid pigments from *Lysimachia vulgaris* L. *Phytotherapy Research*. 1998;12:70–73.
3. Yildirim A. B., Guner B., Karakas F. P., Turker A. U. Evaluation of antibacterial, antitumor, antioxidant activities and phenolic constituents of field-grown and in vitro-grown Lysimachia vulgaris L. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*. 2017;14(2):177–187. DOI: 10.21010/ajtcam.v14i2.19.
4. Toth A., Riethmüller E., Alberti A., Végh K., Kery A. Comparative phytochemical screening of phenoloids in Lysimachia species. *European Chemical Bulletin*. 2012;1(1–2):27–30.
5. Toth A., Toth G., Kery A. Polyphenol composition and antioxidant capacity of three *Lysimachia* species. *Natural Product Communications*. 2014;9:1473–1478. DOI: 10.1177/1934578X1400901017.
6. Toth A., Riethmuller E., Vegh K., Alberti A., Beni S., Kery A. Contribution of individual flavonoids in *Lysimachia* species to the antioxidant capacity based on HPLC-DPPH assay. *Natural Product Research*. 2018;32(17):2058–2061. DOI: 10.1080/14786419.2017.1359176.
7. Yang-Ju S., Jung D. S., Shin J. M., Kim M., Yoo G., Nho C. W. Yellow loosestrife (Lysimachia vulgaris var. davurica) ameliorates liver fibrosis in db/db mice with methionine- and choline-deficient diet-induced nonalcoholic steatohepatitis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2021;21(1):44. DOI: 10.1186/s12906-021-03212-6.
8. Kim S. Y., Lee J. Y., Jhin C., Shin J. M., Kim M., Ahn H. R., Yoo G., Son Y. J., Jung S. H., Nho C. W. Reduction of Hepatic Lipogenesis by Loliolide and Pinoresinol from *Lysimachia vulgaris* via Degrading Liver X Receptors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019;67(45):12419–12427. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b01488.
9. Kim H.-Y., Kim C.-E., Oh D.-R., Kim Y., Choi C.-Y., Kim J. Development and Validation of a High-Performance Liquid Chromatography Method to Quantify Marker Compounds in *Lysimachia vulgaris* var. *davurica* and Its Effects in Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome. *Molecules*. 2024;29(7):1489. DOI: 10.3390/molecules29071489.
10. Nurcholis W., Sya'bani Putri D. N., Husnawati H., Aisyah S. I., Priosoeryanto B. P. Total flavonoid content and antioxidant activity of ethanol and ethyl acetate extracts from accessions of *Amomum compactum* fruits. *Annals of Agricultural Sciences*. 2021;66(1):58-62. DOI: 10.1016/j.aoas.2021.04.001.
11. Zeb A., Rahman F. Phenolic profile, total bioactive contents, and antioxidant activity of pear fruits. *Food Chemistry Advances*. 2024;5:100780. DOI: 10.1016/j.focha.2024.100780.
12. Maache S., Elghouizi A., Zbadi L., Soulo N., Nouioura G., Lyoussi B., Elarabi I. Characterization, antioxidant, and antimicrobial activity of two sage species' organic and aqueous extracts from Morocco's Middle Atlas. *Kuwait Journal of Science*. 2025;52(2):100382. DOI: 10.1016/j.kjs.2025.100382.
13. Imtiaz F., Ahmed D., Mohammed O. A., Younas U., Iqbal M. Optimized recovery of phenolic and flavonoid compounds from medicinal plant extracts for enhanced antioxidant activity: A mixture design approach. *Results in Chemistry*. 2025;13:101960. DOI: 10.1016/j.rechem.2024.101960.
14. de Almeida Soares L., Germano A. T., Vitali L., Mazzuti S., Lins de Aquino Santana L. C. Solid-state fermentation as a pre-treatment method for the extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) and jatobá peel (*Hymenaea courbaril* L.). *Food Bioscience*. 2025;63:105716. DOI: 10.1016/j.fbio.2024.105716.
15. Tseylikman V. E., Lukin A. A. On the effect of oxidative stress on the human body. *International Research Journal*. 2022;3(117):206–211. (In Russ.) DOI: 10.23670/IRJ.2022.117.3.037.
16. Anikin D. A., Solovyeva I. A., Demko I. V., Sobko E. A., Kraposhina A. Yu, Gordeeva N. V. Free-radical oxidation as a pathogenetic factor of metabolic syndrome. *Obesity and metabolism*. 2022;19(3):306–316. (In Russ.) DOI: 10.14341/omet12804.
17. Olefir Yu. V., Romanov B. K., Kukes V. G., Sychev D. A., Prokofiev A. B., Parfenova O. K., Sidorov N. G., Aleksandrova T. V. The role of oxidative stress in the pathogenesis of socially significant human diseases and ways of its drug correction. *Medical news of North Caucasus*. 2021;16(4):450–455. (In Russ.) DOI: 10.14300/mnnc.2021.16109.
18. Sokolova A. Y., Poluyanov A. M., Bardakov A. I., Sologova S. S., Bobkova N. V. Isolation, identification and quantification of flavonoids from the flowers of *Staphylea pinnata* L. *Drug development & registration*. 2024;13(2):155–163. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-2-1796.
19. Boyarshinov V. D., Zorina E. V. Development of quality control parameters for standardization of herb of the cultivated plant *Alchemilla mollis* (Buser) Rothm. *Drug development & registration*. 2022;11(4–1):85–90. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-85-90.
20. Kutateladze G. R., Fedoseeva L. M. Research in the development and validation of the method of quantitative determination of flavonoids in the Common Sorrel herba, gathered in the Altai territory. *Drug development & registration*. 2019;8(2):80–86. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-2-80-86.
21. Nicolescu A., Bunea C. I., Mocan A. Total flavonoid content revised: An overview of past, present, and future determinations in phytochemical analysis. *Analytical Biochemistry*. 2025;700:115794. DOI: 10.1016/j.ab.2025.115794.
22. Xujiang Y., Cuimin H., Xianmei X., Zhike L., Yanfen C. Optimisation study on the flavonoid extraction process from Abrus precatorius leaves and the comparison of total flavonoid content by HPLC and UV. *Journal of Holistic Integrative Pharmacy*. 2023;4(2):119–126. DOI: 10.1016/j.jhip.2023.09.003.
23. Amjad M. S., Talaat A. A., Md Mizanur R., Yousef M. H. Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*. 2021;150:111932. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111932.
24. Bin Mokaizh A. A., Hamid Nour A., Ali G. A. M., Ishmael Ukaegbu C., Faraj Hawege E. Eco-friendly and efficient extraction of phenolic compounds from Commiphora gileadensis bark using microwave-assisted extraction. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2025;142:321–328. DOI: 10.1016/j.jiec.2024.07.038.
25. Liu Y., Wang R., Hu X., Yu C., Wang Z., Zhang L., Liu S., Li C. Optimization of ultrasonic extraction of bioactive components from Alpiniae oxyphyllae Fructus using response surface methodology. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2024;41:100557. DOI: 10.1016/j.jarmap.2024.100557.

26. Zulkifli M. Z. A., Benjamin M. A. Z., Mohd Rosdan M. D. E., Saini A., Rusdi N. A., Awang M. A. Optimisation of yield, flavonoids, and antioxidant activity via ultrasound-assisted extraction of bamboo leaves from Dinochloa sublaevigata S. Dransf. (Wadan) in Sabah, Malaysia. *Advances in Bamboo Science*. 2025;10:100128. DOI: 10.1016/j.bamboo.2025.100128.
27. Rocha G. J. R., Aguiar A. C., Abud C. O. G., Pertuzatti P. B., Sampaio K. A., Paula J. T. Pressurized liquid extraction as a green technique for bioactive compounds recovery from Momordica charantia leaves. *Applied Food Research*. 2025;5(1):100795. DOI: 10.1016/j.afres.2025.100795.
28. Al Hawat L., Alallan L. Estimation of antioxidant and hypolipidemic activities of extracts of *Citrus x aurantium* leaves *in vitro*. *Phytomedicine Plus*. 2025;5(1):100723. DOI: 10.1016/j.phyplu.2024.100723.
29. Kovaleva N. A., Trineeva O. V., Chuvikova I. V., Slivkin A. I. Development and validation of a procedure for quantitative determination of flavonoids in sea buckthorn leaves by spectrophotometry. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2):216–226. (In Russ.) DOI: 10.30895/1991-2919-2023-531.
30. Petrosyan H. R., Nigaryan A. A., Hovhannisyan H. A., Soloyan A. M., Vardapetyan V. V., Martiryan A. I. Evaluation of antioxidant activity and heavy metals content in licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) growing wild in Armenia. *Heliyon*. 2023;9(11):e22442. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e22442.
31. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2018. V. 4. (In Russ.)
32. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XV edition. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2023. V. 2. (In Russ.)
33. Kryukova S. A. Study of the content of flavonoids in the leavs of the redhean region, growing in the territory of Astrakhan region. *Innovative scientific research*. 2021;6–3(8):7–12. (In Russ.) DOI: 10.5281/zenodo.5529051.
34. Benedec D., Hanganu D., Olah. N. K., Mocan A., Vlase L., Raita O., Toma C. C. Comparative Polyphenolic Content and Antioxidant Activities of Two Romanian *Lysimachia* Species. *Revista de Chimie*. 2016;67(2):227–231.