

УДК 615.322:543.422.3

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2024.2.32 EDN: QXGYHO

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ФЕНИЛПРОПАНОИДОВ
В НАСТОЙКЕ СТЕВИИ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕРИИ****© Курдюков Е.Е.¹, Правдивцева О.Е.², Фриндак К.А.¹, Неклюдова В.А.¹, Плешакова Д.А.¹**¹Пензенский государственный университет, Россия 440026, Пенза, ул. Красная 40²Самарский государственный медицинский университет, Россия, 443099, Самара, ул. Чапаевская, 89*Резюме***Цель.** Провести определение количественного содержания суммы фенолпропаноидов в настойке стевии.**Методика.** Объектами исследования служили образцы настоек из листьев стевии на спиртах различной концентрации – 40%, 70%, 96%. Количественное определение содержания суммы фенолпропаноидов оценивали методом прямой спектрофотометрии в пересчете на хлорогеновую кислоту. Образцы настоек на основе листьев стевии были получены методом модифицированной мацерации, перколяции мацерации и ремацерации. Полученные настойки представляют собой прозрачную или опалесцирующую жидкость коричнево-зеленого цвета, запах-специфический, вкус – сладковатый.**Результаты.** Проведено исследование содержания суммы фенолпропаноидов в настойке стевии. Методом прямой спектрофотометрии в настойке из листьев стевии подтверждено наличие фенолпропаноидов, определены аналитические максимумы исследуемых соединений – 290 и 330 нм. Определен оптимальный экстрагент – 70% спирт, выбран оптимальный способ получения настойки. Выявлено, что содержание фенолпропаноидов в настойках стевии варьирует в интервале от 1,71 до 2,95%.**Заключение.** Таким образом, проведены исследования по получению и стандартизации настойки стевии. В качестве метода количественного определения суммы фенолпропаноидов настойки стевии, нами предложен метод прямой спектрофотометрии с определением суммы фенолпропаноидов в пересчете на хлорогеновую кислоту, при аналитической длине волны 330 нм.**Ключевые слова:** *Stevia rebaudiana* Bertoni, *leaves stevia*, листья стевии, фенолпропаноиды, спектрофотометрия, хлорогеновая кислота, настойка**QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE AMOUNT OF PHENYLPROPANOIDS
IN THE STEVIA SETTING BY SPECTROPHOTOMETRY****Kurdyukov E.E.¹, Pravdivtseva O.E.², Frindak K.A.¹, Neklyudova V.A.¹, Pleshakova D.A.¹**¹*Penza State University, 40, Krasnaya St., 440026, Penza, Russia*²*Samara State Medical University, 89 Chapaevskaya St., 443099, Samara, Russia**Abstract***Objective.** To determine the quantitative content of the amount of phenylpropanoids in stevia tincture.**Methods.** The objects of the study were samples of tinctures from stevia leaves on alcohols of various concentrations – 40%, 70%, 96%. Quantitative determination of the amount of phenylpropanoids was evaluated by direct spectrophotometry in terms of chlorogenic acid. Samples of tinctures based on stevia leaves were obtained by modified maceration, percolation maceration and remaceration. The resulting tinctures are a transparent or opalescent brown-green liquid, the smell is specific, the taste is sweet**Results.** A study of the amount of phenylpropanoids in stevia tincture was conducted. The presence of phenylpropanoids was confirmed by direct spectrophotometry in a tincture of stevia leaves, the analytical maxima of the studied compounds were determined - 290 and 330 nm. The optimal extractant was determined – 70% alcohol, the optimal method for obtaining tincture was chosen. It was revealed that the content of phenylpropanoids in stevia tinctures varies in the range from 1.71 to 2.95%.

Conclusion. Thus, studies have been conducted on the production and standardization of stevia tincture. As a method for quantifying the amount of phenylpropanoids of stevia tincture, we have proposed a method of direct spectrophotometry with the determination of the amount of phenylpropanoids in terms of chlorogenic acid, at an analytical wavelength of 330 nm.

Keywords: *Stevia rebaudiana* Bertoni, leaves stevia, phenylpropanoids, spectrophotometry, chlorogenic acid, tincture

Введение

В настоящее время не угасает интерес к лекарственным растительным препаратам, которые могут использоваться в терапии различных заболеваний наряду с препаратами синтетического происхождения. Стевия Ребо (*Stevia rebaudiana* Bertoni, сем. Астровые – *Asteraceae*) является потенциальным лекарственным растением для получения фармацевтических субстанции. В настоящее время стевия является малоизученным растением, недостаточно изучен химический состав. Следовательно, актуальным представляется разработка лекарственных растительных препаратов на основе стевии листьев, в том числе такой лекарственной формы, как настойка [1, 2, 4, 11]. Стевия Ребо является источником получения биологически активных соединений, применяемых в составе комплексной терапии для профилактики и лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, эндокринной системы, сердечно-сосудистой системы, ротовой полости [1, 10].

В стевии листьях обнаружены дитерпеновые гликозиды: стевиозид, ребаудиозиды А, В, С, Д и Е, дулиобиозид, стеревины Е, F, G, H, стевииобиозид. Кроме комплекса дитерпеновых гликозидов в стевии листьях обнаружены биологически активные соединения других классов химических соединений (эфирные масла, флавоноиды, сапонины, органические кислоты, каротиноиды, фенолпропаноиды) [2, 3, 5, 6, 9]. Известно, что стевия обладает широким спектром фармакологической активности, включая гипогликемический, противовоспалительный, адаптогенный и антиоксидантный эффекты [1, 11].

Цель исследования – провести определение количественного содержания суммы фенолпропаноидов в настойке стевии.

Методика

Объектами исследования служили образцы настоек из листьев стевии на спиртах различной концентрации – 40%, 70%, 96%. Количественное определение содержания суммы фенолпропаноидов оценивали методом прямой спектрофотометрии в пересчете на хлорогеновую кислоту [5, 7, 8, 12]. Образцы настоек на основе листьев стевии были получены методом модифицированной мацерации, перколяции мацерации и ремацерации [8]. Полученные настойки представляют собой прозрачную или опалесцирующую жидкость коричнево-зеленого цвета, запах – специфический, вкус – сладковатый.

Результаты исследования и их обсуждение

Определение содержания суммы фенолпропаноидов в настойке в пересчете на хлорогеновую кислоту в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times 50 \times 25}{497 \times 1 \times 1}$$

, где X – содержание фенолпропаноидов в 1 мл настойки, %; D – оптическая плотность исследуемого раствора; 497 – удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при аналитической длине волны 330 нм.

Одним из наиболее распространенных методов определения фенолпропаноидов является прямая спектрофотометрия [7].

Количественное определение суммы фенилпропаноидов в настойке стевии спектрофотометрическим методом проводили в пересчете на хлорогеновую кислоту, исходя из спектров извлечения из настойки и хлорогеновой кислоты (рис.).

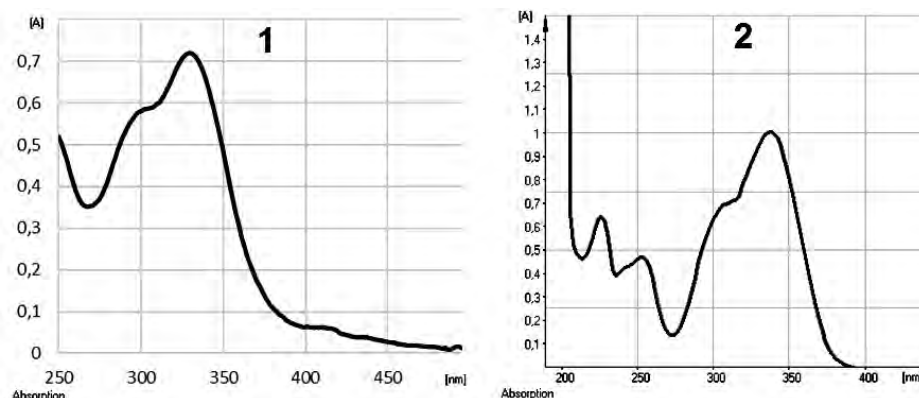


Рис. УФ-спектр настойки стевии (1) и хлорогеновой кислоты (2)

В ходе исследования были получены образцы настоек из листьев стевии методом ремацерации, мацерации, перколяции на 20%, 30%, 40%, 50%, 60% и 70% спирте этиловом. В качестве метода количественного анализа для определения содержания суммы фенилпропаноидов в настойках стевии нами предложен метод прямой спектрофотометрии в пересчете на хлорогеновую кислоту.

Определены максимумы собственного поглощения фенилпропаноидов настоек из листьев стевии – 290 нм (плечо) и 330 нм (максимум). Положение максимумов не меняется при использовании в качестве экстрагента этанола различной концентрации. Раствор СО хлорогеновой кислоты имеет максимум поглощения при 330 ± 2 нм и «плечо» при 290 ± 2 нм. Ввиду близкого расположения максимумов поглощения исследуемой настойки из сырья стевии и вещества-стандарта хлорогеновой кислоты, одним из целесообразных вариантов стандартизации является прямая спектрофотометрия.

С целью пересчета содержания веществ фенольной природы в настойке из листьев стевии на хлорогеновую кислоту нами был использован удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при $\lambda = 330$ нм для прямой спектрофотометрии [6, 7, 8]. Значение $E_{1\%}^{1\text{см}} = 497$ было включено в формулу расчета, что позволило не использовать СО хлорогеновой кислоты в последующих определениях.

Для снятия спектров настоек в мерную колбу на 50 мл помещали 1 мл исследуемой настойки листьев стевии и доводили спиртом этиловым необходимой концентрации до метки (раствор А). Затем 1 мл раствора А помещали в мерную колбу на 25 мл и доводили объем раствора до метки спиртом этиловым 70% (раствор В). Спектры снимали на фоне раствора сравнения – 70% спирте. Полученные УФ-спектры по своим спектральным характеристикам сопоставимы с таковыми растворов извлечений из листьев стевии.

Изучалось влияние экстрагента на процесс экстракции, методом перколяции (табл. 1). При этом спирт этиловый 70%-ной концентрации был выбран в качестве оптимального экстрагента.

Таблица 1. Зависимость выхода БАС настойки стевии от концентрации спирта, методом перколяции

№ п/п	Концентрация спирта, %	Содержание суммы фенилпропаноидов в пересчете на хлорогеновую кислоту, %
1	20	$1,31 \pm 0,09\%$
2	30	$1,25 \pm 0,07\%$
3	40	$1,57 \pm 0,07\%$
4	50	$1,66 \pm 0,08\%$
5	60	$1,89 \pm 0,07\%$
6	70	$1,92 \pm 0,07\%$

Изучалось влияние способа настаивания (табл. 2). При этом метод модифицированной мацерации выбран в качестве оптимального.

Таблица 2. Зависимость выхода БАС настойки стевии от концентрации спирта, методом перколяции

№ п/п	Концентрация спирта, %	Содержание суммы фенилпропаноидов в пересчете на хлорогеновую кислоту
1	Модифицированная мацерация	2,95±0,10%
2	Мацерация	1,80±0,06%
3	Перколяция	1,71±0,08%
4	Ремацерация	1,92±0,07%

Установлено, что содержание фенилпропаноидов в настойке стевии варьирует от 1,71 до 2,95%. Метрологические характеристики методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в настойке стевии методом прямой спектрофотометрии указаны в табл. 3. Результаты статистической обработки полученных результатов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет не более ±3,5% при определении суммы фенилпропаноидов методом прямой спектрофотометрии в пересчете на хлорогеновую кислоту.

Таблица 3. Метрологические характеристики методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в настойке стевии

ЛРС	N	F	\bar{X}	S^2	S	P, %	t (P, f)	$\Delta \bar{X}$	E, %
Модифицированная мацерация	5	4	2,95	0,00628	0,079246	95	2,776	±0,069	±3,33

Заключение

Проведены исследования по получению и стандартизации настойки стевии. В качестве метода количественного определения суммы фенилпропаноидов настойки стевии, нами предложен метод прямой спектрофотометрии с определением суммы фенилпропаноидов в пересчете на хлорогеновую кислоту, при аналитической длине волны 330 нм.

Выявлено, что содержание фенилпропаноидов в настойке стевии варьирует в интервале 1,71-2,95%. Наибольшее количество фенилпропаноидов содержится в настойке стевии полученной способом модифицированной мацерации (2,95%).

Литература (references)

- Горбатенко Л.Е., Дзюба О.О. Стевия – ценное пищевое и лекарственное растение // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: материалы V Междунар. симпозиума. – М., 2003. – Т.3. – С. 317-319. [Gorbatenko L.E. Dzubina O.O. *Novye i netradicionnyye rastenija i perspektivy ih ispol'zovanija: materialy V Mezhdunar. simpoziuma*. New and non-traditional plants and prospects for their use: materials of the V International. Symposium. – 2003. V.3. – P. 317-319. (in Russian)]
- Пономарева Т.А., Горбунова А.А., Ульянычева К.А., Курдюков Е.Е., Таборова А.И. Изучение химического состава стевии листьев // Вестник Пензенского государственного университета. – 2019. – № 4(28). – С. 65-68. [Ponomareva T.A., Gorbunova A.A., Ul'janycheva K.A., Kurdjukov E.E., Taborova A.I. *Vestnik Penzenskogo gosudarstvennogo universiteta*. Bulletin of the Penza State University. – 2019. – N4(28). – P. 65-68. (in Russian)]
- Курдюков Е.Е., Кузнецова А.В., Семенова А.В., Моисеева И.Я. К вопросу стандартизации по содержанию флавоноидов листьев стевии как нового вида лекарственного растительного сырья // Химия растительного сырья. – 2019. – №1. – С. 217-224. [Kurdjukov E.E., Kuznecova A.V., Semenova E.F., Moiseeva I.Ja. *Himija rastitel'nogo syr'ja*. Chemistry of plant raw materials. – 2019. – N1. – P. 217-224. (in Russian)]

4. Курдюков Е.Е., Семенова Е.Ф. Макро- и микроморфологические особенности листьев стевии Ребо *Stevia rebaudiana* Bertoni при интродукции в Среднем Поволжье а // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Сер. Медицина и фармация. – 2017. – №26. – С. 137-145. [Kurdjukov E.E., Semenova E.F. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Ser. Medicina i farmacija*. Scientific Bulletin of Belgorod State University. Ser. Medicine and Pharmacy. – 2017. – N26. – P. 137-145. (in Russian)]
5. Курдюков Е.Е., Митишев А.В., Водопьянова О.А. и др. Методика количественного определения суммы фенолпропаноидов в сырье моринги // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2021. – Т.20, №1. – С. 168-174. [Kurdyukov E.E., Mitishev A.V., Vodopyanova O.A., Antropova N.V., Sukhanova A.V. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2021. – V.20., N1. – P. 168-174. (in Russian)]
6. Курдюков Е.Е., Семенова Е.Ф., Водопьянова Е.Ф., пономарева Т.А. и др. Разработка числовых показателей качества для стандартизации листьев стевии (*Steviarebaudiana* Bertoni) // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2021. – Т.20, №4. – С. 194-201. [Kurdyukov E.E., Semenova E.F., Vodopyanova O.A., Ponomareva T.A. i dr. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2021. – V.20., N4. – С. 194-201. (in Russian)]
7. Куркин В.А. Фенилпропаноиды лекарственных растений. Распространение, классификация, структурный анализ, биологическая активность // Химия природ. соединений. – 2003. – №2. – С. 87-110. [Kurkin V.A. *Himija prirod. soedinenij*. Chemistry of natures. Connections. – 2003. – N2. – P. 87-110. (in Russian)]
8. Куркин В.А., Авдеева Е.В. Проблемы стандартизации растительного сырья и препаратов, содержащих фенилпропаноиды // Фармация. – 2009. – Т.57. №1. – С. 51-54. [Kurkin V.A., Avdeeva E.V. *Farmacija*. Pharmacy. – 2009. – V.57, N1. – P.51-54. (in Russian)]
9. Подпоринова Г. К. Химический состав растительного сырья стевии / Г. К. Подпоринова, Н. Д. Верзилина, К. К. Полянский // Известия вузов. Пищевая технология. – 2005. – №4. – С. 74-75. [Podporinova G.K., Verzilina N.D., Poljanskij K.K. *Izvestija vuzov. Pishhevaja tehnologija*. News of universities. Food technology. – 2005. – N4. – P. 74-75. (in Russian)]
10. Семенова Е.Ф. Антимикробная активность извлечений из сырья стевии / Е.Ф. Семенова, Е.Е. Курдюков, А.И. Шпичка // Сб. ст. VI Междунар. науч. конф. «Актуальные проблемы медицинской науки и образования» АПМНО-2017 (г. Пенза, 14-15 сентября 2017 г.) – Пенза: Изд-во ПГУ. – 2017. – С. 144-146. [Semenova E.F., Kurdjukov E.E., Shpichka A.I. *Sb. st. VI Mezhdunar. nauch. konf. «Aktual'nye problemy medicinskoj nauki i obrazovanija» APMNO-2017 (Penza, 14-15 sentjabrja 2017)*. Sat. art. VI International Scientific Conference "Actual problems of medical science and education" APMNO-2017. – Penza: Izd-vo PGU. - 2017. - P. 144-146. (in Russian)]
11. Семенова Н.А. Стевия – растение XXI века / Н. А. Семенова. – СПб. : ДИЛЯ, 2005. – 160 с. [N. A. Semenova. – SPb. : DILJa, 2005. – 160 p. (in Russian)]
12. Сливкин А.И. Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств / А.И. Сливкин, В.Ф. Селеменов, Е. А. Суховерхова ; под ред. В.Г. Артюхова, А.И. Сливкина. – Воронеж : Изд-во Воронеж. гос. ун-та., 1999. – 368 с. [Slivkin A.I. Selemenov V.F., Suhoverhova E.A. *Fiziko-ximicheskie i biologicheskie metody` ocenki kachestva lekarstvenny`x sredstv*. Pod red. Artjuhova V.G., Slivkina A.I. Physico-chemical and biological methods for evaluating the quality of medicines. – Voronezh : Izd-vo Voronezh. gos. un-t., 1999. - 368 p. (in Russian)]

Информация об авторах

Курдюков Евгений Евгеньевич – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры «Общая и клиническая фармакология» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» Минздрава России. E-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru

Правдивцева Ольга Евгеньевна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: pravdivtheva@mail.ru

Фриндак Кристина Артуровна - студентка 3 курса специальности «Фармация» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет». E-mail: kristina_f_2002@mail.ru

Неклюдова Виктория Андреевна – студентка специальности «Фармация» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» Минздрава России. E-mail: viktorya.nekliudova@yandex.ru

Плешакова Дарья Александровна – студентка специальности «Фармация» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» Минздрава России. E-mail: naturedasha@mail.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.04.2024

Принята к печати 30.05.2024