

УДК 615.322:543.422.3

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2025.4.21 EDN: LCVSVG

РАЗРАБОТКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ СУММАРНОГО СОДЕРЖАНИЯ ФЕНИЛПРОПАНОИДОВ В ТРАВЕ ВЕРБЕНЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ**© Курдюков Е.Е., Митишев А.В., Финаёнова Н.В., Фадеева Т.М., Селезнева Ю.А.***Пензенский государственный университет, Пенза, Россия ул. Красная 40, 440026**Резюме*

Цель. Разработка методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в траве вербены лекарственной методом спектрофотометрии.

Методика. В качестве объекта исследования использовали измельченную и высушеннную траву вербены лекарственной. Для количественного определения фенилпропаноидов в извлечениях из сырья вербены использовали прямой спектрофотометрический метод.

Результаты. Методом прямой спектрофотометрии в спиртовых извлечениях из травы вербены определены аналитические максимумы поглощения исследуемых соединений – 330 нм, что соответствует максимуму поглощения хлорогеновой кислоты. В результате проведенного исследования подобраны оптимальные условия извлечения фенилпропаноидов из травы вербены лекарственной (экстрагент – спирт этиловый 70%; соотношение «сырье-экстрагент» – 1:100; время экстракции – 60 мин.; степень измельченности сырья – 1,0 мм).

Заключение. Разработана и валидирована методика суммарного содержания суммы фенилпропаноидов в траве вербены лекарственной, в пересчете на хлорогеновую кислоту. Установлен норматив суммарного содержания фенилпропаноидов в пересчете на хлорогеновую кислоту не менее 3,4%.

Ключевые слова: Verbena officinalis, вербена, фенилпропаноиды, спектрофотометрия

SPECTROPHOTOMETRIC TECHNIQUE FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE AMOUNT OF PHENYLPROPANOIDS IN THE RAW MATERIALS OF VERBENA OFFICINALIS**Kurdyukov E.E., Mitishev A.V., Finayonova N.V., Fadeeva T.M., Selezneva Yu.A.***Penza State University, 40, Krasnaya St., 440026, Penza, Russia**Abstract*

Objective. Development of a technique for the quantitative determination of the amount of phenylpropanoids in verbena herb by spectrophotometry.

Methods. The crushed and dried herb of verbena officinalis was used as the object of the study. Direct spectrophotometric method was used to quantify phenylpropanoids in extracts from verbena raw materials.

Results. The analytical absorption maxima of the studied compounds, 330 nm, which corresponds to the maximum absorption of chlorogenic acid, were determined by direct spectrophotometry in alcohol extracts from verbena grass. Optimal conditions for the extraction of phenylpropanoids from the raw materials of this plant are substantiated (extractant – ethyl alcohol 70%; the ratio of "raw material – extractant" is 1:100; extraction time is 60 minutes; the degree of grinding of raw materials is 1.0 mm).

Conclusion. A method for the total content of phenylpropanoids in verbena officinalis herb, in terms of chlorogenic acid, has been developed and validated. The standard for the total content of phenylpropanoids in terms of chlorogenic acid is at least 3.4%.

Keywords: Verbena officinalis, verbena, phenylpropanoids, spectrophotometry

Введение

Verbena officinalis (вербена лекарственная) – вид лекарственного растения, широко распространенный и используемый в народной медицине разных стран. Вербена лекарственная является богатым источником различных биологически активных веществ. Представлены основные компоненты: эфирные масла – придают растению характерный аромат и обладают антисептическими свойствами. Растворимая кремниевая кислота – способствует укреплению соединительной ткани и улучшает обмен веществ. Иридоидгликозиды (вербеналин, вербенин, аукубин, хастатозид) – обладают спазмолитическим действием, проявляют антиоксидантные и противовоспалительные свойства. Стероиды (ситостерин) – участвуют в регуляции обмена веществ, оказывают общеукрепляющее действие. Тriterпеноиды (лупеол, урсоловая кислота) – проявляют противовоспалительную активность, способствуют регенерации тканей, обладают антиоксидантными свойствами. Флавоноиды (артеметин, цинарозид) – оказывают капилляроукрепляющее действие, обладают антиоксидантными свойствами и способствуют улучшению кровообращения. Витамин С участвует в образовании коллагена, обладает антиоксидантными свойствами и укрепляет иммунитет. Фенилпропаноиды проявляют антиоксидантную активность и оказывают противовоспалительное действие. Также содержатся горечи (улучшают пищеварение), дубильные вещества (обладают вяжущим действием), полисахариды (оказывают обволакивающее действие). Благодаря такому богатому химическому составу, вербена лекарственная широко применяется в традиционной медицине для улучшения пищеварения, укрепления иммунитета, облегчения симптомов простуды, снижения воспаления и улучшения кровообращения. Важно отметить, что использование вербены лекарственной должно быть согласовано с врачом, так как растение может иметь противопоказания и побочные эффекты при неправильном применении [1-4].

В настоящее время для идентификации и количественного определения фенилпропаноидов в лекарственных растениях используют спектрофотометрические методы [5-7].

Цель исследования – разработка методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в траве вербены лекарственной методом спектрофотометрии.

Методика

На основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы, что оптимальными условиями экстракции фенилпропаноидов из травы вербены лекарственной являются использование этанола 70% концентрации, время экстракции 45 мин. (что близко к оптимальным условиям для аналогичных растений) на кипящей водяной бане. Водная экстракция менее эффективна по сравнению со спиртовыми извлечениями, что характерно для фенилпропаноидов. При увеличении концентрации этанола выше 70% наблюдается снижение эффективности извлечения. При времени экстракции менее 30 мин. процесс извлечения недостаточно эффективен, а увеличение времени свыше 60 мин. не приводит к значительному повышению выхода фенилпропаноидов. Учитывая климатические условия Пензенской области, можно ожидать высокое содержание фенилпропаноидов в сырье, что подтверждается аналогичными исследованиями других растений в данном регионе. Для подтверждения присутствия фенилпропаноидов рекомендуется использовать методы тонкослойной хроматографии (ТСХ), спектрофотометрии (аналитические максимумы при 290 и 330 нм). Полученные извлечения могут быть использованы для дальнейшего изучения химического состава и фармакологических свойств вербены лекарственной.

Например, 1,0 г измельченного сырья помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл с притертой пробкой и прибавляют 100 мл спирта этилового, и взвешивали с погрешностью $\pm 0,01$ г. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане в течение 60 мин. при перемешивании. Извлечение охлаждали до комнатной температуры, взвешивали и при необходимости доводили до первоначальной массы спиртом, концентрация которого соответствовала используемой для экстракции. Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр в колбу, отбрасывая при этом первые 10 мл экстракта (раствор А).

Испытуемый раствор для анализа фенилпропаноидов готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки 70% этиловым спиртом (испытуемый раствор Б). В качестве раствора сравнения использовали спирт этиловый концентрации 70% (раствор сравнения Б).

В методике анализа использовался спектрофотометр СФ-102 (диапазон 200-1100 нм), оптическая плотность измерялась в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 10 мм, спектры регистрировались в диапазоне 200-400 нм, что соответствует УФ-области. Применялась прямая спектрофотометрия, данный метод позволяет определять концентрацию веществ по их поглощению в УФ-области, метод характеризуется высокой точностью и воспроизводимостью. Диапазон 200-400 нм оптимален для определения фенилпропаноидов [2, 6, 7]. Высокая точность определения (подтверждено метрологическими характеристиками). Методика полностью соответствует современным требованиям к количественному определению биологически активных соединений в растительном материале и обеспечивает получение достоверных результатов анализа содержания фенилпропаноидов в траве вербены.

Результаты исследования и их обсуждение

Определение содержания суммы фенилпропаноидов в траве вербены лекарственной в процентах (Х) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times 100 \times 25 \times 100}{497 \times m \times 1 \times (100 - W)}$$

, где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – навеска сырья, г; 497 – удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при 330 нм; W – потеря в массе при высушивании, %.

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы, что фенилпропаноиды, включая хлорогеновую кислоту, являются основной группой биологически активных соединений в траве вербены. Это подтверждается совпадением спектров поглощения фенилпропаноидов из сырья вербены со спектром хлорогеновой кислоты. Разработанная методика количественного определения основана на следующих принципах: использование прямой спектрофотометрии, определение проводится при длине волны 330 нм (максимум поглощения). Применяется удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты равный 497. Установленные максимумы поглощения фенилпропаноидов – 290 нм (плечо спектра) и 330 нм (основной максимум).

Преимущества предложенной методики в том, что не требует использования стандартного образца хлорогеновой кислоты и позволяет проводить прямой количественный анализ. Обеспечивает точность измерений благодаря точному значению удельного показателя поглощения. В ходе исследования были оптимизированы следующие параметры экстракции: концентрация экстрагента, степень измельчения сырья, время экстрагирования, соотношение сырья и экстрагента. Данная методика может быть использована для контроля качества сырья вербены и определения содержания фенилпропаноидов в нем.

На основании проведенных исследований были определены следующие оптимальные условия экстракции фенилпропаноидов. Оптимальной признана концентрация этилового спирта 70%, были исследованы варианты 95%, 70% и 40%. Извлечение с использованием 70% этилового спирта показал наилучшие результаты извлечения. Для определения степени измельчения сырья, исследовались частицы размером 0,5; 1,0 и 2,0 мм. Установлено, что размер частиц в диапазоне 0,5-2,0 мм не оказывает существенного влияния на процесс экстракции. Для удобства технологического процесса выбрана средняя степень измельчения 1,0 мм. Определено соотношение сырье/экстрагент, оптимальным признано соотношение 1:100, исследовался диапазон от 1:50 до 1:200. Данный показатель обеспечивает максимальное извлечение компонентов. Исследовалось время экстракции, оптимальная продолжительность – 60 минут, изучались временные интервалы от 15 до 90 минут, 60-минутная экстракция обеспечивает максимальное извлечение фенилпропаноидов. Таким образом, для получения максимального выхода фенилпропаноидов рекомендуется использовать 70% этиловый спирт в соотношении 1:100 с сырьем, измельченным до размера частиц 1,0 мм, при продолжительности процесса 60 минут.

Полученные спектральные характеристики извлечений из травы вербены (максимум поглощения при 330±2 нм и плечо при 290±2 нм) действительно указывают на наличие фенилпропаноидов в составе экстракта. Такие спектральные характеристики типичны для фенилпропаноидов, в частности для хлорогеновой кислоты, которая является основным представителем фенилпропаноидов в растительном сырье. Важно отметить, что подобные спектральные особенности наблюдаются как у эфиромасличных растений, так и у видов, богатых флавоноидами. Это подтверждает универсальность данного спектрального признака для идентификации

фенилпропаноидов в растительном сырье. Для более детального анализа состава извлечений рекомендуется провести дополнительные исследования с использованием ВЭЖХ, что позволит получить более полную информацию о компонентном составе извлечения и особенностях химического строения присутствующих соединений (рис.).



Рис. Электронный спектр спиртового раствора извлечения из травы вербены

Максимальное количество фенилпропаноидов из травы вербены в оптимальных условиях составило 3,42%. Анализ метрологических характеристик методики позволяет сделать следующие выводы: среднее значение ($\bar{X}_{ср}=3,42$; погрешность среднего результата при $P=95\%$ составляет $\pm 2,58\%$; относительное стандартное отклонение ($RSD=2,08\%$); стандартное отклонение ($S=0,071$); дисперсия ($S^2=0,005$); стандартное отклонение среднего результата ($S_{Xср}=0,031$); полуширина доверительного интервала ($\Delta X_{ср} = 0,088$); При доверительной вероятности 95% истинное значение находится в интервале $3,42 \pm 0,088$. Методика характеризуется хорошей воспроизводимостью, о чем свидетельствует относительно небольшое значение RSD (2,08%). Это говорит о том, что разброс результатов между параллельными определениями незначителен. Точность методики также находится на приемлемом уровне, так как погрешность среднего результата составляет $\pm 2,58\%$ при доверительной вероятности 95%. Это означает, что в 95% случаев истинное содержание фенилпропаноидов будет находиться в интервале от 3,332 до 3,508 (в пересчете на хлорогеновую кислоту). Полученные метрологические характеристики позволяют считать методику пригодной для количественного определения суммы фенилпропаноидов в сырье вербены лекарственной.

Заключение

На основании полученных данных о содержании фенилпропаноидов в траве вербены (3,42%) можно сделать следующие выводы, что данное содержание фенилпропаноидов является существенным, так как эти соединения выполняют важные защитные функции в растении, участвуют в защите от ультрафиолета, служат структурными компонентами клеточных стенок, выполняют роль сигнальных молекул. Подобное суммарное содержание делает вербену перспективным источником для фармацевтической промышленности. Растение может использоваться как компонент лекарственных препаратов. Возможно применение в косметической промышленности благодаря защитным свойствам. Указанное содержание фенилпропаноидов сопоставимо с другими лекарственными растениями. Таким образом, вербена демонстрирует значительный потенциал как источник фенилпропаноидов и может быть рекомендована для дальнейшего изучения и возможного внедрения в промышленное производство лекарственных средств. Для проведения стандартизации растительного сырья вербены лекарственной по содержанию биологически активных соединений, можно установить суммарное содержание фенилпропаноидов не менее 3,4%.

Литература (references)

1. Аникина Т.А., Сазанова М.Л. Биологически активные вещества травы вербены лекарственной // Химические проблемы современности: Сборник материалов VII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. – Донецк, 2023. – С. 13-15. [Anikina T.A., Sazanova M.L.

- Himicheskie problemy sovremennosti: Sbornik materialov VII Mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii studentov, aspirantov i molodyh uchenyh. Chemical Problems of Modernity 2023: Proceedings of the VII International Scientific Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. – Donetsk, 2023. - pp. 13-15. (in Russian)]*
2. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. – URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> [Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiiskoi Federatsii XIV izdaniya. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition. – URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (in Russian)]
 3. Коняева Е.А., Сайбель О.Л. Морфолого-анатомическое изучение травы вербены лекарственной (*Verbena officinalis* L.) // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2020. – №2, Т.28. – С. 56-61. [Konyaeva E.A., Saibel O.L. *Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennyh sredstv. Issues of quality assurance of medicines.* – 2020. – N2, V.28. – P. 56-61. (in Russian)]
 4. Куляк О.Ю., Адамов Г.В., Радимич А.И., Сайбель О.Л. Вербена лекарственная (*Verbena officinalis* L.): обзор фитохимических и фармакологических исследований // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2019. – Т.22. – №11. – С. 9-18. [Kulik O.Yu., Adamov G.V., Radimich A.I., Saibel O.L. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoy i farmacevicheskoy himii. Issues of biological, medical and pharmaceutical chemistry.* – 2019. – V.22, N11. – P. 9-18. (in Russian)]
 5. Куркин В.А. Фенилпропаноиды лекарственных растений. Распространение, классификация, структурный анализ, биологическая активность // Химия природных соединений. – 2003. – №2. – С. 87-110. [Kurkin V.A. *Imiya prirodyh soedinenij. Chemistry of natural compounds.* – 2003. – N2. – P. 87-110. (in Russian)].
 6. 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. *Pharmaciya. Pharmacy.* – 2009. – V.57, N1. – P. 51-54. (in Russian)]
 7. Сливкин А.И., Селеменов В.Ф., Суховерхова Е.А. Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств. – 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 lekarstvennyx 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)]
 8. Deepak M., Handa S. S. Antiinflammatory activity and chemical composition of extracts of *Verbena officinalis* // *Phytother. Res.* – 2000. – V.14, N6. – P. 463-468.
 9. Dildar A., Chaudhary M. A., Raza A. et al. Comparative study of antibacterial activity and mineral contents of various parts of *Verbena officinalis* Linn. // *Asian Jurnal of Chemestry.* – 2012. – V. 24. – P. 68-72.
 10. Khan A. W., Khan A. U., Ahmed T. Anticonvulsant, anxiolytic, and sedative activities of *Verbena officinali* // *Front Pharmacol.* – 2016. – V.7. – P. 1-8.
 11. Kubica P., Szopa A., Dominiak J., Luczkiewicz M., Ekiert H. *Verbena officinalis (Common Vervain) - A Review on the Investigations of This Medicinally Important Plant Species* // *Planta Medica.* – 2020. – N86, V.17. – P. 1241-1257.

Информация об авторах

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

Митищев Александр Владимирович – старший преподаватель кафедры «Общая и клиническая фармакология» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет». E-mail: span2361@rambler.ru

Финаёнова Надежда Валерьевна – ассистент кафедры «Общая и клиническая фармакология» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет». E-mail: lafaso98@mail.ru

Фадеева Татьяна Михайловна – кандидат биологических наук, доцент кафедры «Общая и клиническая фармакология» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет».

Селезнева Юлия Алексеевна – студентка по специальности «Фармация» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет»

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 14.03.2025

Принята к печати 28.11.2025