

УДК 615.322:543.422.3

К ВОПРОСУ СТАНДАРТИЗАЦИИ ПО СОДЕРЖАНИЮ ФЛАВОНОИДОВ ЛИСТЬЕВ СТЕВИИ КАК ПЕРСПЕКТИВНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

© *Е.Е. Курдюков**, *А.В. Кузнецова*, *Е.Ф. Семенова*, *И.Я. Моисеева*

*Пензенский государственный университет, ул. Красная, 40, Пенза, 440026
(Россия), e-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru*

Объектами исследования были высушенные листья стевии двух сортов, выращенной в России (Краснодарский край, Республика Крым, Пензенская область). Цель настоящей работы – доказать присутствие, количественно определить содержание флавоноидов в сырье стевии, полученной в различных регионах России, и предложить методические подходы для стандартизации листьев стевии как перспективного лекарственного растительного сырья.

Проведено исследование флавоноидного состава сырья стевии – растения, используемого в качестве подсластителя. Для подтверждения наличия флавоноидов в листьях стевии предложены химические реакции. Обоснована целесообразность использования спектрофотометрического метода для обнаружения и количественного определения флавоноидов в этанольных экстрактах из сырья стевии. Определены аналитические максимумы собственного поглощения флавоноидов листьев стевии – 330 и 290 нм (плечо). Установлено, что в присутствии хлорида алюминия флавоноиды стевии образуют комплексное соединение с максимумом поглощения 408 нм. Разработан метод дифференциальной спектрофотометрии для количественного определения флавоноидов стевии. Выявлено, что содержание флавоноидов в различных сортах стевии варьирует в интервале 2–3%. В образцах стевии, интродуцированной в условиях Пензенской области, содержание флавоноидов снижено по сравнению с сырьем стевии, полученной в Краснодарском крае.

Ключевые слова: *Stevia rebaudiana* Bertoni, флавоноиды, спектрофотометрия, количественное определение, комплекс $AlCl_3$.

Введение

Известно, что лекарственные растения классифицируют на потенциальные, перспективные и эффективные [1]. Потенциальными лекарственными растениями считаются виды, проявившие тот или иной фармакологический эффект в опытах, но не прошедшие клинические испытания. Перспективными являются виды, возможность применения которых в медицине установлена, но в настоящее время они не используются либо из-за незавершенности работ в области фармакологии и клинической проверки, способов сбора сырья, либо несовершенства технологии переработки, недостаточности природных ресурсов. Эффективные производящие лекарственные растения – это ботанические виды, используемые в качестве официальных (фармакопейных). Согласно фармакологической классификации лекарственных растений, составленной Н.В. Сыровежко, К.Ф. Блиновой, Е.Е. Лесиовской, стевия Ребо *Stevia rebaudiana* Bertoni Hemsley относится к растениям группы XIIв. «Влияющие на эндокринную систему: антидиабетические» [1]. Имеются литературные данные о при-

Курдюков Евгений Евгеньевич – ассистент,
e-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru

Кузнецова Анна Викторовна – кандидат химических наук, доцент, e-mail: kuznetanna1@hotmail.com

Семенова Елена Федоровна – старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, профессор,
e-mail: sef1957@mail.ru

Моисеева Инесса Яковлевна – доктор медицинских наук, профессор, e-mail: moiseeva_pharm@mail.ru

сутствии в импортируемом сырье стевии флавоноидов, витаминов, алкалоидов в терапевтических количествах [2]. Известны также антимикробные, антиоксидантные, адаптогенные свойства экстрактов из листьев стевии [3–7], что дает основание рассматривать стевию как перспективное лекарственное растение.

Стевия содержит сладкие дитерпеновые гликозиды и используется в России как биодобавка

* Автор, с которым следует вести переписку.

– натуральный заменитель сахара. Родина стевии – Парагвай, она культивируется в Южной Америке, Японии, Тайване, Малайзии, других странах с тропическим климатом. Биологически активные соединения сырья стевии российского производства практически не изучены. Природными антиоксидантами традиционно считаются растительные флавоноиды, полифенольные соединения, производные бензо- γ -пирона. Одним из этапов контроля качества лекарственного растительного сырья является доказательство подлинности и количественное определение определенных групп действующих веществ.

Цель настоящей работы – доказать присутствие, количественно определить содержание флавоноидов в сырье стевии, полученной в различных регионах России, и предложить методические подходы для стандартизации листьев стевии как перспективного лекарственного растительного сырья.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования использовали 4 образца высушенных листьев стевии, выращенной в Краснодарском крае, Пензенской области и Республике Крым двух сортов (Рамонская сластена, София), заготовленных в фазу цветения. Извлечение флавоноидов из листьев стевии проводили путем однократной экстракции этанолом (95, 70 и 40%) при нагревании на кипящей водяной бане в течение 45 мин. Для качественных реакций использовали извлечение с соотношением сырье – экстрагент 1 : 10, для спектрофотометрических определений – 1 : 100. Для доказательства присутствия флавоноидов проводили следующие испытания: цианидиновая проба, реакции с раствором аммиака, гидроксидом натрия, хлоридом железа (III), спиртовым раствором $AlCl_3$ [8–12].

Спектры собственного поглощения флавоноидов листьев стевии регистрировали в интервале длин волн 200–400 нм (спектрофотометр СФ-200, кварцевые кюветы с толщиной поглощающего слоя 1 см). Для количественного определения флавоноидов в извлечениях из листьев стевии применяли метод дифференциальной спектрофотометрии. Метод основан на исследовании спектров поглощения продуктов реакции суммы флавоноидов листьев стевии с хлоридом алюминия. Испытуемый раствор готовили следующим образом: 2 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 2 мл алюминия хлорида раствора 3% в спирте 95% и через 10 мин 2 капли разведенной кислоты уксусной. Объем раствора доводили спиртом этиловым 95% до метки и оставляли на 30 мин (раствор Б). В качестве раствора сравнения использовали раствор, приготовленный при тех же условиях, но без $AlCl_3$. Содержание суммы флавоноидов рассчитывали двумя способами:

1) по стандартному образцу рутин

– содержание суммы флавоноидов в процентах (X) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \times m_0 \times 100 \times 25 \times 1 \times 100 \times 100}{D_0 \times m \times 2 \times 1 \times 50 \times 25 \times (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора ГСО рутин; m_0 – масса ГСО рутин, г; m – масса сырья, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

2) по удельному показателю поглощения рутин [11]

– содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \times 100 \times 25 \times 100}{190 \times a \times 2 \times (100 - W)}$$

где A – оптическая плотность раствора; 190 – удельный показатель поглощения комплекса рутин с алюминия хлоридом при длине волны 410 нм [11]; a – навеска сырья, г; W – влажность сырья, %.

Обсуждение результатов

Выбор химических реакций доказательства присутствия флавоноидов в экстрактах из листьев стевии. Флавоноиды ограниченно растворимы в воде и относительно термостабильны. Экстракцию флавоноидов из листьев стевии осуществляли 70% этанолом при кипячении 30 мин на водяной бане [9-11]. С полученным

экстрактом проводили качественные реакции на присутствие флавоноидов. Известно, что реакции на флавоноиды основаны на образовании окрашенных комплексных соединений. В качестве основной специфической реакции на флавоноиды используется цианидиновая проба (проба Шинода) [8, 13, 14]. При добавлении порошка магния и конц. HCl к экстракту из листьев стевии появлялось красное окрашивание (образование пирилевых солей при восстановлении водородом флавоноидного фрагмента).

Другие реакции на флавоноиды – с раствором аммиака, гидроксидом натрия и хлоридом железа (III) – малоспецифичны. С раствором аммиака наблюдали буро-желтое окрашивание, характерное для флавонов. С хлоридом железа – зеленое окрашивание за счет образования комплексных соединений флавоноидов по фенольным гидроксилам. В методиках качественного и количественного определения флавоноидов используется реакция комплексообразования с хлоридом алюминия [9, 10, 12]. При прибавлении хлорида алюминия к экстракту из листьев стевии наблюдали желтое окрашивание, характерное для флавоноидов (табл. 1).

Таким образом, в этанольном экстракте из листьев стевии были обнаружены соединения флавоноидной структуры.

Таблица 1. Результаты цветных реакций на флавоноиды экстрактов из листьев стевии

Реакция	Проба Шинода Mg + HCl	NH ₃	NaOH	AlCl ₃	FeCl ₃
Окрашивание	Розовое	Буро-желтое	Желтое	Желтое	Зеленое

Изучение спектральных характеристик флавоноидов листьев стевии. Одним из наиболее быстрых и доступных методов доказательства присутствия и количественного определения флавоноидов является спектрофотометрический метод, основанный на определении оптической плотности раствора анализируемых веществ при определенной длине волны [9, 10].

В методиках количественного определения флавоноидов растительного сырья для извлечения используются водно-спиртовые растворы различной концентрации. Обнаружено, что по сравнению с 70% спиртовыми экстрактами интенсивность пиков в 40 и 95% спиртовых экстрактах меньше. Следовательно, для экстракции флавоноидов из листьев стевии целесообразно использование этанола 70%.

Показано, что УФ-спектры экстрактов листьев стевии имеют один четкий максимум поглощения при 330 нм и плечо при 290 нм (рис. 1). Следует отметить, что при использовании различных концентраций этанола-экстрагента эти параметры спектра постоянны. Также практически не меняется соотношение A₂₉₀/A₃₃₀.

В общем виде химическую структуру флавоноидов можно представить в виде двух бензольных колец (А и В), которые соединены между собой гетероциклической системой пирана или пирона (кольцо С). Флавоноиды подразделяются на 6 или 7 классов в зависимости от характера связи между кольцами В и С и степени гидроксирования функциональных групп в кольце С (рис. 2).

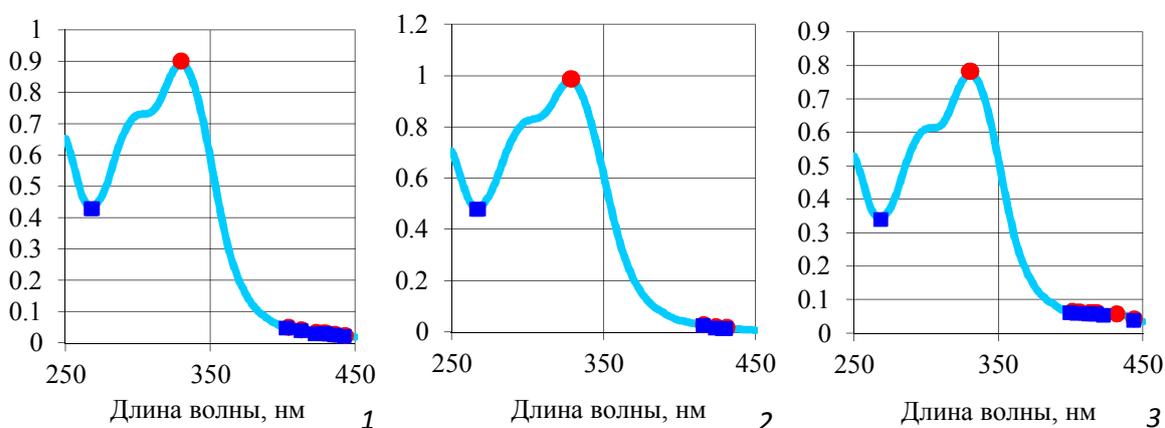


Рис. 1. УФ-спектр спиртового экстракта стевии Рамонская сладена (Краснодар): концентрации этанола: 1 – 40%, 2 – 70%, 3 – 95%

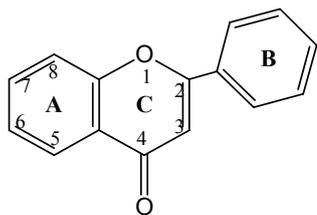


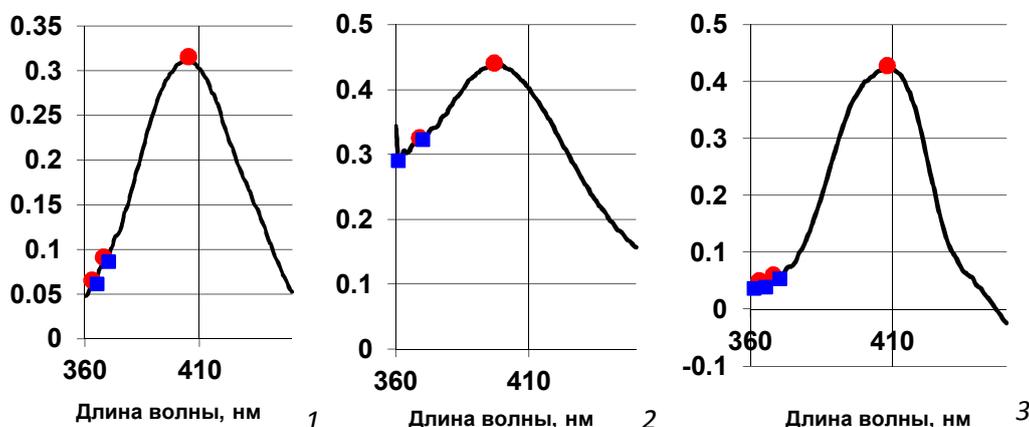
Рис. 2. Общая химическая структура флавоноидов [12]

Известно, что по характеру УФ-спектра флавоноидов можно сделать некоторые предположения о структуре агликона. Обычно флавоноиды имеют 2 полосы поглощения в УФ-области спектра [12, 13, 15–18]. Полоса поглощения в области 240–290 нм – это поглощение сопряженной системы бензольного кольца А. Некоторые флавоноиды имеют вторую полосу поглощения с максимумом в области 300–550 нм. Эта полоса отчетливо проявляется у флавонолов и флавонов, т.е. классов флавоноидов, в которых имеется сопряжение между кольцами В и С (двойная связь в положении С2–С3). Наличие в экстрактах из листьев стевии ярко выраженного максимума поглощения при 330 нм указывает на преобладание в стевии флавонолов и флавонов [9, 10].

Разработка количественного определения флавоноидов в листьях стевии. Одним из наиболее удобных, быстрых и дешевых методов определения флавоноидов является дифференциальная спектрофотометрия. В условиях комплексообразования флавоноидов с хлоридом алюминия наблюдается bathochromный сдвиг полосы поглощения флавоноидов, в частности флавонов и флавонолов, который обнаруживается в УФ-спектре в виде максимума поглощения в области 380–412 нм. Эта область спектра относительно удалена от максимумов поглощения сопутствующих фенольных и других соединений, что позволяет сделать количественное определение более селективным.

Имеются исследования об определении флавоноидов в листьях стевии, выращенной на Украине, подобном России климатическом регионе. В работах И.В. Кузнецовой [19] методом дифференциальной спектрофотометрии определено содержание флавоноидов – 6,39%. Мы считаем, что такое содержание флавоноидов сильно завышено. В статье [19] количественное определение флавоноидов проводится по величине поглощения экстракта из листьев стевии, которое составляет более 3 единиц оптической плотности. Эта величина поглощения неприменима к выполнению количественных определений, основанных на законе Бугера-Ламберта-Бера. Обычно разведение раствора подбирается так, чтобы поглощение раствора находилось в интервале 0,2–0,9. Более высокие или низкие значения драматически повышают ошибку метода [20]. Р.Н. Халилова и соавт. в работе [21] обнаружили 17% флавоноидов в пересчете на рутин. По фармакопейным характеристикам известные источники флавоноидов: зверобой продырявленный *Hypericum perforatum* и гинкго двудольный *Ginkgo biloba* содержат около 3% и 10% флавоноидов соответственно [11].

При разработке количественного определения флавоноидов в листьях стевии изучены УФ-спектры их комплексных соединений с хлоридом алюминия. Было установлено, что в присутствии алюминия хлорида, максимум поглощения комплексного соединения флавоноидов стевии находится в области 408±4 нм (рис. 3).

Рис. 3. УФ-спектр спиртового экстракта стевии сорта Рамонская сладена (Краснодар) с добавлением AlCl_3 : концентрации этанола: 1 – 40%, 2 – 70%, 3 – 95%

Следует отметить, что положение максимумов не меняется при использовании разных концентраций этанола и листьев стевии различного происхождения.

Таким образом, при реакции с хлоридом алюминия флавоноиды стевии образуют комплексное соединение с максимумом поглощения 408 нм. Представлялось интересным проанализировать возможность использования 408 нм в качестве аналитической длины волны при разработке метода количественного определения суммы флавоноидов стевии. Для количественного спектрофотометрического анализа необходим стандарт или величина удельного показателя поглощения флавоноидов. В фармакопейных анализах классическим стандартом флавоноидов является рутин. Расчет содержания флавоноидов по ГСО рутин используется в методах стандартизации травы эрвы шерстистой и травы репешка аптечного [9, 10]. В нашей работе комплекс рутин с хлоридом алюминия имел четкий максимум при 413 нм (рис. 4).

Следовательно, рутин по спектральным характеристикам близок к флавоноидам листьев стевии и может быть использован в методике количественного анализа в качестве стандарта.

С использованием разработанной методики определения флавоноидов были проанализированы образцы стевии, выращенной в различных регионах России. Было установлено, что содержание флавоноидов в листьях стевии варьирует от 2 до 3% (табл. 2). Содержание флавоноидов зависит от погодных-климатических условий произрастания стевии: под влиянием повышенной солнечной радиации и на почвах, богатых гумусом, увеличивается содержание флавоноидов [22].

Максимальное количество флавоноидов содержало сырье сорта Рамонская сладостена, культивируемого в южных регионах России. Вероятно, оно представляет особый интерес для производства фитосредств на основе стевии. Нами показано, что по содержанию флавоноидов сорт Рамонская сладостена, выращенный в Пензенской области, на 20–30% уступает сырью стевии, полученного в условиях Краснодарского края. Это дает основание полагать, что регион возделывания стевии в России может быть расширен и включать агроклиматические условия Пензенской области.

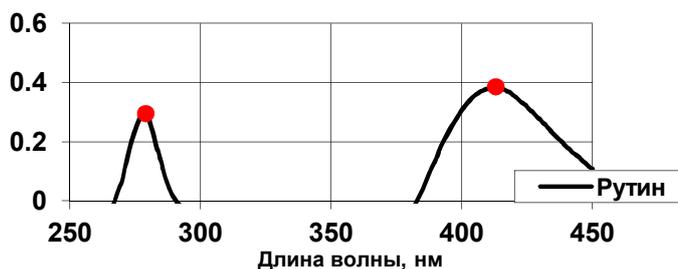


Рис. 4. УФ-спектр раствора ГСО рутина (дифференциальный спектр)

Таблица 2. Количественное содержание суммы флавоноидов в высушенных листьях стевии

Сорт стевии, место произрастания	Спирт, %	Содержание флавоноидов, % (по ГСО рутина)	Содержание флавоноидов, % (по удельному показателю поглощения)
Рамонская сладостена (Краснодар)	40	2.24±0.03	2.22±0.04
Рамонская сладостена (Краснодар)	70	3.17±0.02	3.14±0.02
Рамонская сладостена (Краснодар)	95	3.06±0.04	3.03±0.05
Рамонская сладостена (Крым)	40	2.16±0.03	2.13±0.03
Рамонская сладостена (Крым)	70	2.72±0.05	2.69±0.05
Рамонская сладостена (Крым)	95	2.29±0.03	2.27±0.03
Рамонская сладостена (Пенза)	40	2.13±0.03	2.11±0.04
Рамонская сладостена (Пенза)	70	2.89±0.05	2.86±0.04
Рамонская сладостена (Пенза)	95	2.09±0.03	2.07±0.04
София (Пенза)	40	2.45±0.03	2.42±0.03
София (Пенза)	70	2.62±0.04	2.59±0.03
София (Пенза)	95	2.21±0.03	2.19±0.03

Иногда в фармакопейных методах количественного определения допускается расчет концентрации флавоноидов по удельному показателю поглощения. Этот способ более дешевый, так как не требует наличия сертифицированных стандартных образцов. Следует отметить, что величина удельного показателя поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом зависит от длины волны регистрации поглощения. Мы предла-

гаем в качестве удельного показателя поглощения использовать величину 190, которая допускается при расчете содержания суммы флавоноидов в листьях гинкго двулопастного – *Ginkgo biloba* L. [11]. $A_{1\text{см}}^{1\%} = 190$ – удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом при длине волны 406 нм (408 нм – установленный нами максимум поглощения комплексного соединения флавоноидов стеви с хлоридом алюминия). При использовании такого удельного показателя поглощения результаты хорошо согласуются с полученными при расчете по стандарту рутина (табл. 2). В качестве нижнего предела при разработке фармакопейной статьи на листья стеви как лекарственного растительного сырья предлагаем указывать показатель содержания суммы флавоноидов – не менее 2,0%.

Выводы

Для доказательства присутствия флавоноидов в экстрактах из листьев стеви целесообразно использовать специфичную цианидиновую пробу.

Определены максимумы собственного поглощения флавоноидов спиртовых экстрактов из листьев стеви – 290 нм (плечо) и 330 нм (максимум). Положение максимумов не изменялось при концентрации экстрагента 40, 70 и 95%. Для экстракции флавоноидов из листьев стеви оптимально использовать растворы этанола 70%.

Модифицирован метод дифференциальной спектрофотометрии для количественного определения флавоноидов стеви по стандарту рутина. Определена аналитическая длина волны 408 нм.

Выявлено, что содержание флавоноидов в различных сортах стеви варьирует в интервале 2–3%. В образцах стеви, интродуцированной в условиях Пензенской области, содержание флавоноидов снижено по сравнению со стевией, культивируемой в условиях Краснодарского края.

Полученные результаты позволяют рекомендовать листья стеви как источник флавоноидов наряду с официальными лекарственными растениями. Предлагается отнести комплекс флавоноидов ко второй группе биологически активных соединений листьев стеви.

Список литературы

1. Фармакогнозия. Лекарственное растительное сырье растительного и животного происхождения / под ред. Г.П. Яковлева. СПб., 2013. 847 с.
2. Sheeja R.R., Lawrence B. Phytochemical Screening of the Leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2015. Vol. 4(3). Pp. 344–347.
3. Lemus-Mondaca R., Vega-Gálvez A., Zura-Bravo L., Ah-Hen K. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects // Food Chemistry. 2012. Vol. 132. Pp. 1121–1132
4. Семенова Н.А. Стевия – растение XXI века. СПб., 2005. 160 с.
5. Комиссаренко Н.Ф., Дергач А.И., Ковалев И.П., Бублик Н.П., Черменева Г.В., Котов А.Г., Зинченко В.В., Тимченко Н.М., Ледгварели В.А. Стевия ребаудиана – как источник дитерпеновых подсластителей фенилпропаноидов // Пробл. лікарського рослинництва. Полтава, 1996. С. 217–218.
6. Семенова Е.Ф., Веденеева А.С., Жужжалова Т.П. Скрининг антимикробной активности жидких экстрактов стеви Ребо (*Stevia rebaudiana* Bertoni) // Вестник Воронежского государственного университета. Сер.: Химия. Биология. Фармация. 2010. №1. С. 121–126.
7. Курдюков Е.Е., Семенова Е.Ф. Макро- и микроморфологические особенности листьев стеви Ребо *Stevia rebaudiana* Bertoni при интродукции в Среднем Поволжье // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Сер. Медицина. Фармация, 2017. № 26. С. 137–144.
8. Ладыгина Е.Я., Сафронич Л.Н., Отрященко В.Э. и др. Химический анализ лекарственных растений / под ред. Н.А. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. М., 1983. 176 с.
9. Куркина А.В. Актуальные вопросы химической стандартизации лекарственных растений, содержащих флавоноиды // Фармация. 2012. Т. 60, №7. С. 44–48.
10. Куркин В.А., Рязанова Т.К. Количественное определение суммы флавоноидов в побегах черники обыкновенной // Химико-фармацевтический журнал. 2013. Т. 47, №4. С. 34–37.
11. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIII издание. М., 2015. Т. 3. 1294 с.
12. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. Самара, 2012. 290 с.
13. Лобанова А.А., Будаева В.В., Сакович Г.В. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья // Химия растительного сырья. 2004. №1. С. 47–52.
14. Сорокина А.А., Марахова А.И., Федоровский Н.Н. Использование спектрофотометрии в анализе промышленных образцов лекарственного растительного сырья // Фармация. 2012. №4. С. 43–45.
15. Леонова В.Н., Попова О.И., Савенко И.А. Определение флавоноидов в листьях форзиции промежуточной (*Forsythia intermedia* Zabel.) // Химия растительного сырья. 2013. №1. С. 175–178.

16. Лобанова А.А., Будаева В.В., Сакович Г.В. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья // Химия растительного сырья. 2004. №1. С. 47-52.
17. Бубенчиков Р. А., Дроздова И. Л. Флавоноиды фиалки трехцветной // Фармация. 2004. №2. С. 11–12.
18. Иванов В.В., Кодониди М.И., Денисенко О.Н. Флавоноидный состав надземной части рейнотрии сахалинской (*Reynoutria sachalinensis* (F.Schmidt) Nakai) // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. Пятигорск, 2011. Вып. 66. С. 102–103.
19. Кузнецова И.В. Определение флавоноидов в листьях стевии (*Stevia rebaudiana* Bertoni) // Химия растительного сырья. 2015. №4. С. 57–61.
20. Дорохова Е.Н., Прохорова Г.В. Аналитическая химия. Физико-химические методы анализа. М., 1991. 256 с.
21. Халилова Р.Н., Велиева Г.А., Щепетова Е.В. Количественное содержание флавоноидов в лекарственном растительном сырье стевии (*Stevia rebaudiana* Bertoni) // Международный научный журнал «Инновационная наука». 2015. №12. С. 40–42.
22. Кузнецова М.А. Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии. М., 1974. 272 с.

Поступила в редакцию 5 мая 2018 г.

После переработки 13 сентября 2018 г.

Принята к публикации 19 сентября 2018 г.

Для цитирования: Курдюков Е.Е., Кузнецова А.В., Семенова Е.Ф., Моисеева И.Я. К вопросу стандартизации по содержанию флавоноидов листьев стевии как перспективного лекарственного растительного сырья // Химия растительного сырья. 2019. №1. С. 217–224. DOI: 10.14258/jcrpm.2019014067.

*Kurdyukov E.E.**, *Kuznetsova A.V.*, *Semenova E.F.*, *Moiseeva I.Ya.* APPROACH TO STEVIA STANDARDIZATION AS PERSPECTIVE MEDICINAL PLANT: EVALUATION OF STEVIA LEAVES FLAVONOID CONTENTS

Penza State University, Krasnaya St.40, Penza, 440026 (Russia), e-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru

Stevia rebaudiana bertolli traditionally used as a sweetener has many pharmacological activities. The objects of the study were stevia leaves grown in the several districts of Russia. Together with sweet glycosides flavonoids can be a marker of stevia quality. Flavonoids from dry stevia leaves were extracted with ethanol-water solutions. The results show that the flavonoid content higher in 40 and 70% ethanol extracts. UV properties of stevia extracts were investigated. Absorption maxima at 300 and shoulder at 290 nm in stevia extracts are revealed. Chemical structures of stevia flavonoids are discussed. After adding aluminum chloride bathochromic shifts in the spectra are observed. Complex of stevia flavonoids and $AlCl_3$ had the maximum absorption at 403 nm. Aluminum chloride colorimetric assay were developed to evaluate total flavonoid contains in stevia extracts from the different Russian regions. Total flavonoid contents vary from 2 to 3 %. Maximum flavonoid content found in stevia leaves from the south of Russia.

Keywords: *Stevia rebaudiana* Bertoni, flavonoids, spectrophotometric assay, $AlCl_3$, complex.

* Corresponding author.

References

1. *Farmakognosiya. Lekarstvennoye rastitel'noye syr'ye rastitel'nogo i zhivotnogo proiskhozhdeniya* [Pharmacognosy. Medicinal plant raw materials of plant and animal origin]. Ed. G.P. Yakovlev. St. Petersburg, 2013, 847 p. (in Russ.).
2. Sheeja R.R., Lawrence B. *Int. J. Curr. Microbiol.App.Sci.*, 2015, vol. 4(3), pp. 344–347.
3. Lemus-Mondaca R., Vega-Gálvez A., Zura-Bravo L., Ah-Hen K. *Food Chemistry*, 2012, vol. 132, pp. 1121–1132.
4. Semenova N.A. *Steviya – rasteniyе XXI veka*. [Stevia - a plant of the XXI century]. St. Petersburg, 2005, 160 p. (in Russ.).
5. Komissarenko N.F., Dergach A.I., Kovalev I.P., Bublik N.P., Chermenёva G.V., Kotov A.G., Zinchenko V.V., Timchenko N.M., Ledgvareli V.A. *Probl. likars'kogo roslinnitstva*, [Problems of medicinal plant growing]. Poltava, 1996, pp. 217–218. (in Russ.).
6. Semenova Ye.F., Vedenevёva A.S., Zhuzhzhалova T.P. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Ser.: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, 2010, no. 1, pp. 121–126. (in Russ.).
7. Kurdyukov Ye.Ye., Semenova Ye.F. *Nauchnyye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Ser. Medicina. Farmatsiya*, 2017, no. 26, pp. 137–144. (in Russ.).
8. Ladygina Ye.Ya., Safronich L.N., Otryashenkova V.E. et al. *Khimicheskiy analiz lekarstvennykh rasteniy*. [Chemical analysis of medicinal plants]. Ed. N.A. Grinkevich, L.N.Safronich. Moscow, 1983, 176 p. (in Russ.).
9. Kurkina A.V. *Farmatsiya*, 2012, vol. 60, no. 7, pp. 44–48. (in Russ.).
10. Kurkin V.A., Ryazanova T.K. *Khimiko-farmatsevticheskyy zhurnal*, 2013, vol. 47, no. 4, pp. 34–37. (in Russ.).
11. *Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiyskoy Federatsii*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. XIII ed. Moscow, 2015, vol. 3, 1294 p. (in Russ.).
12. Kurkina A.V. *Flavonoidy farmakopeynykh rasteniy: monografiya*. [Flavonoids of pharmacopoeial plants: monograph]. Samara, 2012, 290 p. (in Russ.).
13. Lobanova A.A., Budayeva V.V., Sakovich G.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2004, no. 1, pp. 47–52. (in Russ.).
14. Sorokina A.A., Marakhova A.I., Fedorovskiy N.N. *Farmatsiya*, 2012, no. 4, pp. 43–45. (in Russ.).
15. Leonova V.N., Popova O.I., Savenko I.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2013, no. 1, pp. 175–178. (in Russ.).
16. Lobanova A.A., Budayeva V.V., Sakovich G.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2004, no. 1, pp. 47–52. (in Russ.).
17. Bubenichikov R.A., Drozdova I.L. *Farmatsiya*, 2004, no. 2, pp. 11–12. (in Russ.).
18. Ivanov V.V., Kodonidi M.I., Denisenko O.N. *Razrabotka, issledovaniye i marketing novoy farmatsevticheskoy produktsii*. [Development, research and marketing of new pharmaceutical products]. Pyatigorsk, 2011, issue 66, pp. 102–103. (in Russ.).
19. Kuznetsova I.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2015, no. 4, pp. 57–61. (in Russ.).
20. Dorokhova Ye.N., Prokhorova G.V. *Analiticheskaya khimiya. Fiziko-khimicheskkiye metody analiza* [Analytical chemistry. Physico-chemical methods of analysis]. Moscow, 1991, 256 p. (in Russ.).
21. Khalilova R.N., Veliyeva G.A., Shchepetova Ye.V. *Mezhdunarodnyy nauchnyy zhurnal «Innovatsionnaya nauka»*, 2015, no. 12, pp. 40–42. (in Russ.).
22. Kuznetsova M.A. *Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po farmakognozii*. [Guide to practical classes on pharmacognosy]. Moscow, 1974, 272 p. (in Russ.).

Received May 5, 2018

Revised September 13, 2018

Accepted September 19, 2018

For citing: Kurdyukov E.E., Kuznetsova A.V., Semenova E.F., Moiseeva I.Ya. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 1, pp. 217–224. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2019014067.