

Содержание дубильных веществ в корневищах ириса болотного, произрастающего в Московской области

А.А. Сорокина¹, Е.А. Тихомирова¹,
Е.Н. Костикова¹, Ф.Ш. Сулейманова¹, Т.А. Сокольская²

¹Первый Московский государственный медицинский
университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет);
Российская Федерация, 119048, Москва, Трубецкая ул. д. 8, стр. 2;

²Компания ООО «Зинтек»;
Российская Федерация, 119620, Москва, Солнцевский проспект, д.15, пом. 1, к. 39

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сорокина Алла Анатольевна – профессор кафедры фармацевтического естествознания Института фармации Сеченовского Университета, доктор фармацевтических наук. Тел.: +7 (916) 487-88-96. E-mail: sor.alla2013@yandex.ru

Тихомирова Екатерина Алексеевна – аспирант кафедры фармацевтического естествознания Института фармации Сеченовского Университета. Тел.: +7 (916) 708-05-20. E-mail: tekatal@rambler.ru

Костикова Елена Николаевна – ассистент кафедры фармацевтического естествознания Института фармации Сеченовского Университета, кандидат фармацевтических наук. Тел.: +7 (916) 279-09-13. E-mail: grinko.e@gmail.com

Сулейманова Фидан Ширин Кызы – аспирант, ассистент кафедры химии Института фармации Сеченовского Университета. Тел.: +7 (926) 349-07-62. E-mail:suleymanovafidan5@gmail.com

Сокольская Татьяна Александровна – специалист по фармаконадзору компании ООО «Зинтек», доктор фармацевтических наук, профессор. Тел.: +7 (916) 120-12-18. E-mail: eferubko@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. Дубильные вещества широко распространены в растительном мире. Для их количественного определения в лекарственном растительном сырье используются титриметрический и спектрофотометрический методы, каждый из них имеет свои достоинства и недостатки. Для полной характеристики метаболома корневищ ириса болотного необходима более углубленная информация о содержащихся в сырье дубильных веществах.

Цель работы – определение отдельных групп дубильных веществ в корневищах ириса болотного, произрастающего в Московской области.

Материал и методы. Объект исследования – высушенные корневища дикорастущего ириса болотного, заготовленные осенью в Шатурском районе Московской области. Содержание дубильных веществ в сырье определяли титриметрически (перманганатометрия) и спектрофотометрически в пересчете на танин, а после осаждения раствором коллагена в пересчете на галловую кислоту.

Результаты. Установлено содержание дубильных веществ в корневищах ириса болотного, а именно общая сумма дубильных веществ, осаждаемых 1% раствором коллагена, и фенольных соединений после удаления конденсированных дубильных веществ. Рассчитаны удельные показатели поглощения для используемых в работе водных растворов стандартных образцов танина и галловой кислоты при экспериментальных длинах волн.

Заключение. Для корневищ ириса болотного, произрастающего в Московской области, получена расширенная информация по содержанию в них дубильных веществ.

Ключевые слова: дубильные вещества, ирис болотный, *Iris pseudacorus* L., спектрофотометрия, перманганатометрия,

Для цитирования: Сорокина А.А., Тихомирова Е.А., Костикова Е.Н., Сулейманова Ф.Ш., Сокольская Т.А. Содержание дубильных веществ в корневищах ириса болотного, произрастающего в Московской области. Фармация, 2019; 68 (6): 20–26. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-06-04>

THE CONTENT OF TANNINS IN THE RHIZOMES OF YELLOW IRIS (*IRIS PSEUDACORUS*) GROWING IN THE MOSCOW REGION
A.A. Sorokina¹, E.A. Tikhomirova¹, E.N. Kostikova¹, F.Sh. Suleimanova¹, T.A. Sokolskaya²

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991, Russian Federation

²ООО «Zintek», 15, Solntsevsky Prospect, Office 1, k. 39, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Sorokina Alla Anatolievna – professor Department of the Pharmaceutical Natural Science, Institute of Pharmacy of Sechenov University, Doctor Pharmaceutical Science. Tel.: +7 (916) 487-88-96. E-mail: sor.alla2013@yandex.ru

Tikhomirova Ekaterina Alekseevna – postgraduate Student Department of the Pharmaceutical Natural Science, Institute of Pharmacy of Sechenov University. Tel.: +7 (916) 708-05-20. E-mail: tekatal@rambler.ru

Kostikova Elena Nikolaevna – assistant Department of the Pharmaceutical Natural Science, Institute of Pharmacy of Sechenov University, Candidat Pharmaceutical Science. Tel.: +7 (916) 279-09-13. E-mail: grinko.e@gmail.com

Suleymanova Fidan Shirin Kyzy – postgraduate Student, assistant Department of Chemistry, Institute of Pharmacy of Sechenov University. Tel.: +7 (926) 349-07-62. E-mail: suleymanovafidan5@gmail.com

Sokol'sraya Tatiana Aleksandrovna – Pharmacovigilance Specialist «Zintec LLC», Doctor Pharmaceutical Science, professor. Tel.: +7 (916) 120-12-18. E-mail: eferubko@yandex.ru

SUMMARY

Introduction. Tannins are widespread in the plant world. Their quantitative determination in medicinal plant raw materials requires the use of titrimetric and spectrophotometric assays, each of them has its own advantages and disadvantages. More in-depth information on tannins contained in the raw material is needed to completely describe the metabolome of yellow iris (*Iris pseudacorus*) rhizomes.

Objective: to determine certain groups of tannins in the rhizomes of yellow iris growing in the Moscow Region.

Material and methods. The investigation object was the dried rhizomes of wild yellow iris, which had been harvested in autumn in the Shatursky District, Moscow Region. The content of tannins in the raw materials was determined titrimetrically (*permanganatometrically*) and spectrophotometrically on a tannin basis and after precipitation with a collagen solution on a gallic acid basis.

Results. The yellow iris rhizome content of tannins, namely the total amount of tannins precipitated with a 1% solution of collagen and phenolic compound, was found after extraction of condensed tannins. The specific absorbance was calculated for the aqueous solutions of standard samples of tannin and gallic acid used in the work at experimental wavelengths.

Conclusion. Extended information was obtained on the content of tannins in the rhizomes of yellow iris growing in the Moscow Region.

Keywords: tannins, yellow iris, *Iris pseudacorus* L., spectrophotometry, permanganometry.

For citation: Sorokina A.A., Tikhomirova E.A., Kostikova E.N., Suleimanova F.Sh., Sokolskaya T.A. The content of tannins in the rhizomes of yellow iris (*Iris pseudacorus*) growing in the Moscow Region. Farmatsiya (Pharmacy), 2019; 68 (6): 20–26. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-06-04>

Введение

Дубильные вещества (ДВ), или танины, широко распространены в растительном мире. Они представляют собой производные фенолов разнообразной структуры от низкомолекулярных соединений до конденсированных больших молекул. В растениях ДВ выполняют различные функции: принимают участие во взаимоотношениях растений с микроорганизмами-симбионтами и патогенами, включаются в обмен веществ с образованием первичных метаболитов, например, органических кислот, подвергаются катаболизму в качестве резервных веществ после расщепления сахаров. Они могут накапливаться практически в любых органах растений – листьях, коре, древесине, подземных органах, плодах, растворяются в клеточном соке и обнаруживаются главным образом в клетках паренхимы [1].

Попадая в организм человека и животных, ДВ взаимодействуют с белками организма-хозяина и клеточной стенки бактерий, оказывая таким образом вяжущее и антимикробное действие. Подобно всем фенольным соединениям-восстановителям ДВ обладают противовоспалительной и

антиоксидантной активностью, укрепляют капилляры и повышают свертываемость крови, выполняют функцию детоксикантов за счет способности свободных фенольных радикалов связывать тяжелые металлы и алкалоиды [2]. Благодаря этим и другим свойствам ДВ применяются в медицине в качестве вяжущих, противомикробных, противовоспалительных и кровоостанавливающих средств [3].

Соединения, относящиеся к дубильным веществам, различаются по строению и химическим свойствам (рис. 1). По величине молекулярной массы и степени конденсации молекулы выделяют гидролизуемые ДВ, представляющие собой сложные эфиры сахаров и фенолкарбоновых кислот, легко поддающиеся гидролизу (дигалловая кислоты, танин), и конденсированные – продукты окисления катехинов, фрагменты молекул которых связаны прочными С-С связями, не расщепляющимися под действием ферментов и кислот (галлокатехин, эпигаллокатехин, их эфиры с галловой кислотой) [4].

Для определения ДВ в лекарственном растительном сырье (ЛРС) и препаратах на его осно-

ве существует несколько методов. Основными являются титриметрический метод Левенталя (титрант – раствор калия перманганата) и спектрофотометрический (СФМ), вошедшие в Государственную фармакопею РФ XIV издания (ГФ РФ XIV) [5].

Метод перманганатометрии основан на способности дубильных веществ к окислению, он прост в исполнении и используется для анализа ЛРС уже давно. Однако у данного метода есть существенные недостатки: под воздействием сильного окислителя в реакцию, кроме ДВ, вступают и другие соединения, присутствующие в растительных объектах. Кроме того, сам процесс ручного титрования и визуального фиксирования конечной точки титрования (КТТ) субъективен. С этим

помогают справляться автоматические титраторы и потенциометрический способ определения КТТ [6].

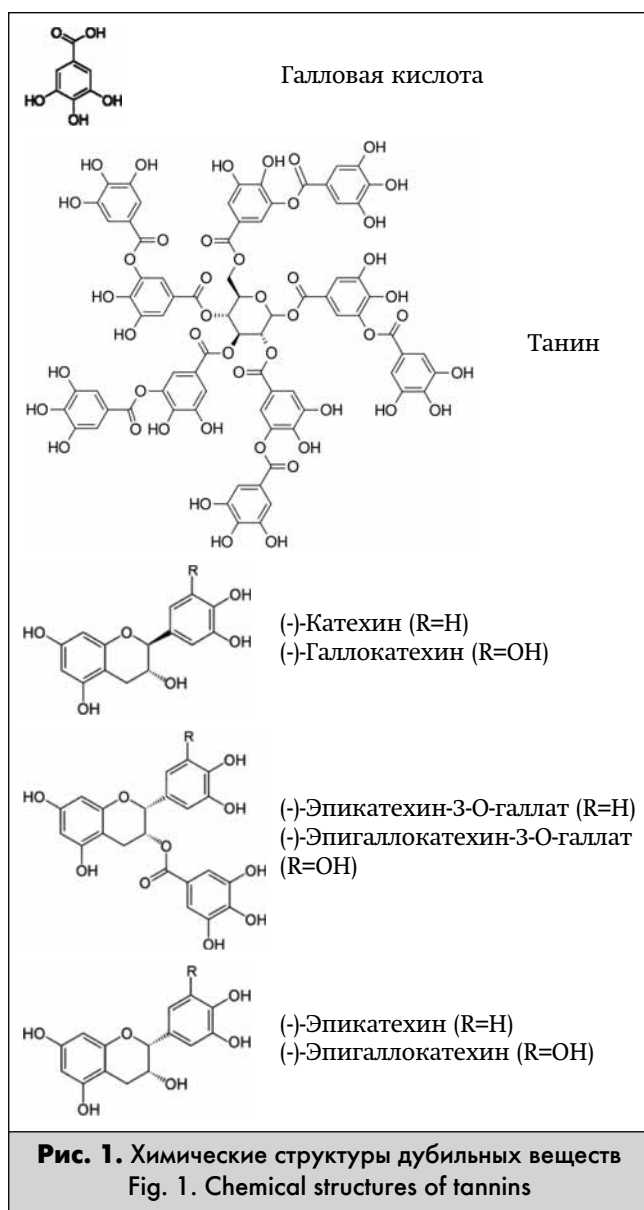
Метод СФМ применяется для определения веществ, способных поглощать проходящий монохроматический свет при определенной длине волны. Он более объективен и быстр в исполнении. Однако следует учитывать, что свой вклад в количественный результат будут вносить все соединения, присутствующие в ЛРС и обладающие такими свойствами. При определении используют стандартные образцы (СО) веществ с известной длиной волны, на которую приходится максимум поглощения (λ_{max}), или тот или иной метод очистки [6].

Как способ очистки и отделения собственно ДВ применяют метод осаждения ДВ 1% раствором коллагена из раствора (водного извлечения из сырья). Он базируется на различии в химических свойствах соединений этой группы (Патент №2439568; 2012). Высокомолекулярные истинные ДВ могут реагировать с компонентами и продуктами переработки тканей животных, а именно образовывать осадок с кожным порошком, или желатином, или раствором коллагена.

При определении суммы ДВ по фармакопейным методикам непосредственно в водном извлечении из ЛРС (титрованием или СФМ) проводится пересчет на танин. В варианте с предварительным осаждением находят сумму ДВ, осаждаемых раствором коллагена, в пересчете на галловую кислоту как низкомолекулярный компонент ДВ, остающийся в растворе после отделения осадка коллагена с конденсированными ДВ.

На территории РФ распространен ирис болотный, корневища которого широко применяются в народной медицине при заболеваниях мочевыводящих путей и верхних дыхательных путей как противомикробное и отхаркивающее средство. В официальной медицине они разрешены в качестве средства сопутствующей терапии при лечении онкологических заболеваний [7, 8]. Согласно данным литературы, корневища ириса болотного содержат значительное количество фенольных соединений, в том числе дубильных веществ и их компонентов [9]. Для полной характеристики метаболизма корневищ ириса болотного необходима более углубленная информация по содержащимся в сырье ДВ.

Цель данной работы – определение отдельных групп ДВ в корневищах ириса болотного, произрастающего в Московской области.



Материал и методы

Объект исследования – высушенные корневища дикорастущего ириса болотного, заготовленные осенью 2018 г. в Шатурском районе Московской области.

Определение суммы ДВ в ЛРС проводили перманганатометрически и спектрофотометрически в водном извлечении в пересчете на танин и после осаждения раствором коллагена в пересчете на галловую кислоту. Титриметрическое (перманганатометрическое) определение ДВ в растительном сырье проводили по методике ГФ РФ XIV (метод 1).

Спектрофотометрическое определение осуществляли на спектрофотометре Analytik Jena (Германия). Из водного извлечения, полученного по методу 1, согласно ГФ РФ XIV, отбирали аликвоту 2 мл в колбу вместимостью 50 мл, доводили водой до метки (раствор А) и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре в кварцевых кюветах с толщиной слоя 10 мм. Стандартным образцом (СО) служил танин. Сумму ДВ в пересчете на танин и абсолютно сухое сырье (%) устанавливали по калибровочному графику раствора танина. Расчет выполняли по формуле:

$$X = \frac{250 \cdot 50 \cdot C \cdot 100 \cdot 100}{m_{\text{нав}} \cdot V_{\text{аликвоты}} \cdot (100 - W)},$$

где C – количество ДВ, соответствующее концентрации танина, найденное по калибровочному графику, г/мл; $m_{\text{нав}}$ – масса навески сырья, г; $V_{\text{аликвоты}}$ – объем аликвоты, мл; W – влажность ЛРС, %.

Для построения калибровочного графика 0,025 г танина (точная навеска) растворяли в воде в мерной колбе объемом 250 мл (0,01% раствор танина). Из этого раствора отбирали аликвоты в мерные колбы вместимостью 100 мл и доводили водой до метки. Измеряли поглощение полученных растворов в диапазоне длин волн 274–275 нм (рис. 2); раствором сравнения служила вода. Калибровочный график строили в координатах «концентрация раствора СО танина, г/мл·10⁻⁶ – оптическая плотность».

Для определения содержания в сырье ириса болотного ДВ, осаждаемых 1% раствором коллагена в 1% уксусной кислоте, к 30 мл исходного водного извлечения, полученного по методу 1 (ГФ РФ XIV), прибавляли экспериментально подобранный объем раствора коллагена, оставляли на 45 мин при постоянном перемешивании, осадок отделяли фильтрованием, с фильтратом

проводили дальнейшие манипуляции: перманганатометрическое титрование и спектрофотометрическое определение.

Для СФМ определения 2 мл полученного фильтрата переносили в мерную колбу на 50 мл, доводили водой до метки (раствор В) и измеряли оптическую плотность раствора. Содержание ДВ, осаждаемых раствором коллагена, в пересчете на галловую кислоту и абсолютно сухое сырье (%) рассчитывали с помощью экспериментально рассчитанного по калибровочному графику удельного показателя поглощения раствора СО галловой кислоты по формуле:

$$X = \frac{(A_A - A_B) \cdot 250 \cdot 50 \cdot 100}{m_{\text{нав}} \cdot V_{\text{аликвоты}} \cdot A_{1\text{ см}}^{1\%} \cdot (100 - W)},$$

где A_A – оптическая плотность раствора А; A_B – оптическая плотность раствора В; $m_{\text{нав}}$ – мас-

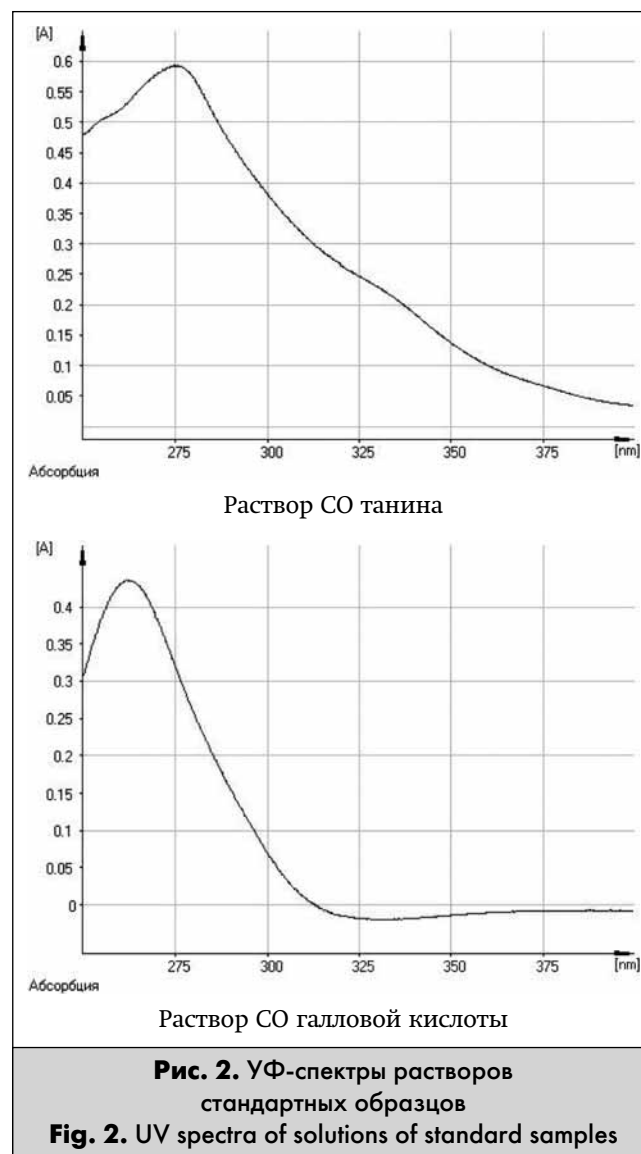


Рис. 2. УФ-спектры растворов стандартных образцов
Fig. 2. UV spectra of solutions of standard samples

са навески, г; $V_{\text{аликвоты}}$ – объем аликвоты (2 мл); $A_{1\text{ см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения раствора галловой кислоты (оптическая плотность 1% раствора галловой кислоты – 1 мг/мл; толщина слоя 1 см); W – влажность сырья, %.

Для построения калибровочного графика 0,1 г (точная навеска) галловой кислоты растворяли в воде в мерной колбе на 100 мл (0,1% раствор галловой кислоты). Из этого раствора отбирали аликвоты в мерные колбы вместимостью 100 мл и доводили водой до метки. Измеряли поглощение полученных растворов при длине волны 261–263 нм (автоматическое определение λ_{max}), в качестве раствора сравнения использовали воду (см. рис. 2). Калибровочный график строили в координатах «концентрация раствора СО галловой кислоты, г/мл·10⁻⁵ – оптическая плотность».

В растворе после осаждения ДВ 1% раствором коллагена спектрофотометрически определяли содержание фенольных соединений по формуле:

$$X_B = \frac{A_B \cdot 250 \cdot 50 \cdot 100}{m_{\text{нав}} \cdot V_{\text{аликвоты}} \cdot A_{1\text{ см}}^{1\%} \cdot (100 - W)}$$

Статистическую обработку результатов выполняли по методике ГФ РФ XIV.

Результаты и обсуждение

Предварительно с помощью качественных реакций с водным извлечением из корневищ ириса болотного подтвердили присутствие в сырье обеих групп ДВ: и конденсированных, и гидро-

лизуемых. Использовали реакции с раствором железо-аммонийных квасцов [сульфат железа (III)-аммония], с формальдегидом и концентрированной серной кислотой, с раствором коллагена, реакцию образования азокрасителя.

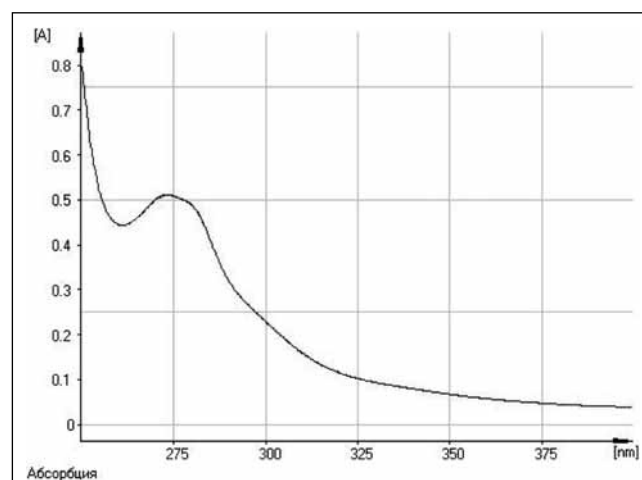
Экспериментально для исследуемого объекта было подобрано оптимальное количество 1% раствора коллагена, обеспечивающее полное удаление ДВ из раствора. Максимальное снижение оптической плотности водного извлечения из корневищ ириса болотного было достигнуто при добавлении 6 мл раствора коллагена (табл. 1, рис. 3).

Удельные показатели поглощения ($A_{1\text{ см}}^{1\%}$) для водных растворов галловой кислоты и танина при используемых в количественном определении длинах волн были определены эксперимен-

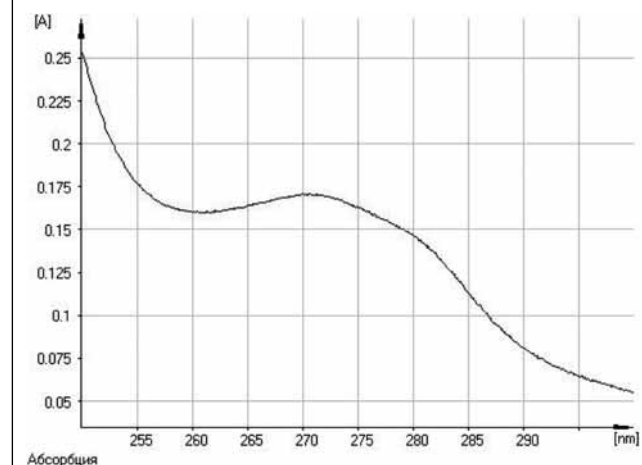
Таблица 1
Установление количества 1% раствора коллагена, необходимого для осаждения дубильных веществ

Table 1
Determination of the amount of 1% collagen solution required for precipitation of tannins

Объем добавляемого раствора коллагена, мл	Оптическая плотность раствора после удаления ДВ
1	0,3623
2	0,3420
3	0,2772
4	0,2457
5	0,2225
6	0,1708
7	0,1793



До осаждения раствором коллагена



После добавления 6 мл раствора коллагена

Рис. 3. УФ-спектры водного извлечения из корневищ ириса болотного
Fig. 3. UV spectra of aqueous extraction from yellow iris rhizomes

тально (табл. 2). Полученные значения длин волн максимума поглощения соответствуют данным литературы [10]. Расчет выполняли с использованием калибровочных графиков растворов стандартных образцов по формуле:

$$A_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{A}{C \cdot V},$$

где А – оптическая плотность раствора СО; С – концентрация вещества в г/100 мл; в – длина оптического пути или толщина слоя, см.

Содержание в корневищах ириса болотного, произрастающего в Московской области, суммы ДВ в пересчете на танин, определенное перманганатометрически по фармакопейной методике, составило 12,58±0,56%. После удаления конденсированных ДВ раствором коллагена по разнице определений до и после осаждения установлено содержание ДВ, осаждаемых раствором коллагена, в пересчете на галловую кислоту – 6,30±0,26%. Сумма ДВ в пересчете на танин и абсолютно сухое сырье ириса болотного, полученная методом

СФМ, составила 5,55±0,20% (табл. 3). При спектрофотометрическом определении содержание ДВ, осаждаемых раствором коллагена, в пересчете на галловую кислоту и абсолютно сухое сырье оказалось на уровне 2,51±0,11%.

После осаждения ДВ раствором коллагена в водном извлечении методом СФМ было определено содержание фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту, которое составило 1,25±0,06%.

Полученные данные подтверждают теоретические положения о том, что перманганатометрия дает завышенные результаты, так как определяются все соединения, обладающие восстанавливающей способностью, а СФМ показывает суммарное значение поглощения для всех соединений, обладающих оптической активностью.

Заключение

Таким образом, в корневищах ириса болотного, произрастающего в Московской области, установлено содержание суммы ДВ в пересчете на танин и содержание конденсированных ДВ, осаждаемых 1% раствором коллагена. Рассчитаны удельные показатели поглощения для используемых в работе водных растворов стандартных образцов танина и галловой кислоты при экспериментальных длинах волн.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Таблица 2

Спектральные характеристики стандартных образцов

Table 2

Spectral characteristics of standard samples

Стандартный образец	Длина волны, нм	Удельный показатель поглощения, $A_{1\text{ см}}^{1\%}$
Танин	275–276	308,21
Галловая кислота	261–263	422,24

Таблица 3

Содержание дубильных веществ и фенольных соединений в корневищах ириса болотного, произрастающего в Московской области

Table 3

The content of tannins and phenolic compounds in the rhizomes of yellow iris growing in the Moscow Region

Метод определения	Содержание, %		
	сумма дубильных веществ		фенольных соединений (в пересчете на галловую кислоту)
	без осаждения (в пересчете на танин)	осаждаемых раствором коллагена (в пересчете на галловую кислоту)	
Перманганатометрия	12,58±0,56	6,30±0,26	–
СФМ	5,55±0,20	2,51±0,11	1,25±0,06

Литература

1. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и их роль в жизни растения: 56-е Тимирязевские чтения. М.: Наука, 1996.
2. Практикум по фармакогнозии. Под ред. В.Н. Ковалева. Харьков: Золотые страницы; МТК Книга, 2004; 512.
3. Аляутдин Р.Н. и др. Лекарствоведение. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017; 1056.
4. Федосеева Л.М. Изучение дубильных веществ подземных и надземных вегетативных органов бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitch.), произрастающего на Алтае. Химия растительного сырья, 2005; 3: 45–50.

5. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. [Электронный ресурс]. Режим доступа <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>
6. Марахова А.И., Сорокина А.А., Жилкина В.Ю. Физико-химические методы в анализе лекарственного растительного сырья и препаратов на растительной основе. М.: Ваш формат, 2017; 308.
7. Тихомирова Е.А., Сорокина А.А., Марахова А.И. Корневища ириса болотного: антимикробная активность. Фармация, 2017; 66 (7): 42–5.
8. Тихомирова Л.И. и др. Фармаколо-биохимическое обоснование практического использования некоторых представителей рода *Iris* L. Химия растительного сырья, 2015;3: 25–34.
9. Тарбеева Д.В., Федорев С.А., Веселова М.В. и др. Полифенольные метаболиты корней растения *Iris pseudacorus* L. Химия природных соединений, 2015; 3: 394–7.
10. Мисин В.М., Клименко И.В., Журавлева Т.С. О пригодности галловой кислоты в качестве стандартного образца состава антиоксиданта. Компетентность, 2014; 7: 118.

References

1. Zaprometov M.N. Phenolic compounds and their role in plant life. 56 Timiryazevskie chteniya. Moscow: Nauka, 1996 (in Russian).
2. Workshop on pharmacognosy (by ed. V.N. Kovalev). Khar'kov: Zoloty strantsy: MTK Kniga, 2004; 512 (in Russian).
3. Alyautdin R.N. et al. Pharmacology. Moscow: GEOTAR-Media, 2017; 1056 (in Russian).
4. Fedoseeva L.M. Study of tannins of underground and above-ground vegetative organs of bergenia (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitch.) growing in Altai. Khimiya rastitel'nogo syr'ya, 2005; 3: 45–50 (in Russian).
5. The State Pharmacopoeia of The Russian Federation, XIV-ed. [Electronic resource]. Access mode: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> (in Russian).
6. Marakhova A.I., Sorokina A.A., Zhilkina V.Yu. Physico-chemical methods in the analysis of medicinal plants and herbal preparations. Moscow: Vashformat, 2017; 308 (in Russian).
7. Tikhomirova E.A., Sorokina A.A., Marakhova A.I. Rhizomes of marsh iris: antimicrobial activity. Farmatsiya, 2017; 66 (7): 42–5 (in Russian).
8. Tikhomirova L.I. et al. Pharmacological and biochemical rationale for the practical use of some members of the genus *Iris* L. Khimiya rastitel'nogo syr'ya, 2015; 3: 25–34 (in Russian).
9. Tarbeeva D.V., Fedoreev S.A., Veselova M.V. et al. Polyphenolic metabolites of *Iris pseudacorus* L. and its cell culture. Khimiya prirodnikh soedineniy, 2015; 3: 394–7 (in Russian).
10. Misin V.M., Klimenko I.V., Zhuravleva T.S. On the suitability of gallic acid as a standard sample of antioxidant composition. Kompetentnost', 2014; 7: 118 (in Russian).

Поступила 22 ноября 2018 г.

Received 22 November 2018

Принята к публикации 11 марта 2019 г.

Accepted 11 March 2019