

## РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В КОРНЯХ РЕВЕНЯ ТАНГУТСКОГО

К. Н. Семенюта<sup>1</sup>, В. А. Куркин<sup>2</sup>, А. А. Шмыгарева<sup>1</sup>, А. Н. Саньков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»

Поступила в редакцию 14.11.2020 г.

**Аннотация.** В настоящей работе обсуждаются актуальные аспекты разработки методики стандартизации корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.). Дубильные вещества являются второй доминирующей группой биологически-активных веществ корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.). Существующая методика определения дубильных веществ в корнях ревеня тангутского, представленная в ФС.2.5.0092.18 Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания, предусматривает использование методики прямого перманганатометрического титрования в пересчете на танин с визуальным детектированием точки эквивалентности в виде образования золотисто-желтого окрашивания вследствие реакции первой капли избытка перманганата калия с индигокармином, достаточно трудоемка и неточна. Предложены новые подходы количественного анализа содержания дубильных веществ в корнях ревеня тангутского, заключающиеся в использовании метода спектрофотометрии при аналитической длине волны  $282 \pm 2$  нм в пересчете на катехин. В целях максимальной экстракции дубильных веществ из сырья ревеня тангутского были подобраны оптимальные условия: экстрагент – вода, соотношение сырье – экстрагент 1 к 50, время экстракции на кипящей водяной бане – 15 минут. С помощью спектрофотометра Unicо 2800 были изучены УФ-спектры растворов водных извлечений из сырья. Использование катехина, дающего максимум поглощения при длине волны примерно около  $282 \pm 2$  нм, как стандарта является наиболее оптимальным, поскольку он является одним из доминирующих веществ и распространен в различных других лекарственных растениях, содержащих дубильные вещества как основную группу биологически активных соединений, а, значит, позволяет полученные данные использовать для сравнения содержания дубильных веществ в различных лекарственных растениях. Содержание дубильных веществ в корнях ревеня тангутского при подобранных условиях экстракции равно 21.74%. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения дубильных веществ в корнях ревеня тангутского  $\pm 7.40\%$ . Предложенная методика проста, доступна и не требует использования большого количества реактивов.

**Ключевые слова:** ремень тангутский, *Rheum palmatum* L., корни, дубильные вещества, катехин, стандартизация, спектрофотометрия.

Роль лекарственных растений и получаемых из них эффективных препаратов и лекарственных форм значительно возросла в последние годы. Расширяется фронт научно-исследовательских работ как в области изыскания новых лекарственных растений, так и более углубленного изучения химического состава растений, давно применяемых в научной и народной медицине [1-3]. Ревень тангутский (*Rheum palmatum* L.) сем. Гречишные

(*Polygonaceae*) – лекарственное растение, используемое в традиционной медицине стран Европейского Союза, традиционной и нетрадиционной китайской медицине, гомеопатии. Интерес к данному лекарственному растению обусловлен его уникальным химическим составом [4-6]. Ведущими группами биологически активных соединений корней ревеня тангутского выступают вещества, обладающие абсолютно противоположными фармакологическими свойствами – дубильные вещества и антраценпроизводные [7-10]. Характер действия извлечений из корней ревеня на желу-

дочно-кишечный тракт зависит от дозировки: вяжущее, противовоспалительное действие оказывают малые количества экстрактов, слабительным же эффектом обладают наоборот большие количества [11-13]. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания в ФС.2.5.0092.18 содержит методику количественного определения дубильных веществ в корнях ревеня в пересчете на танин прямым перманганатометрическим титрованием методом Левенталя-Курсанова. В соответствии с этим методом дубильные вещества определяются путем окисления их перманганатом калия в слабозабавленных растворах в присутствии индигосульфокислоты [14]. Данная методика достаточно трудоемка и неточна. Для определения дубильных веществ в корнях ревеня тангутского была предложена методика спектрофотометрического определения в пересчете на катехин. Экспериментальным путем были подобраны оптимальные условия для экстракции дубильных веществ из сырья.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектами исследования служили корни ревеня тангутского ООО «Старослав», Россия, Новосибирская обл., г. Бердск, 2018 год. Электронные спектры измерялись на УФ-спектрофотометре UNICO 2800.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл воды. Колбу закрывают пробкой, взвешивают с точностью до  $\pm 0.01$ , присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 15 минут с момента закипания экстрагента. После этого содержимое колбы охлаждают, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы водой. Полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А). 1 мл раствора А помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят объем раствора до метки водой. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при аналитической длине волны 282 нм в кювете с толщиной слоя

10 мм. Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на катехин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{E \times m_o \times 100 \times 1 \times 25 \times 100 \times 100}{E_o \times m \times 100 \times 4 \times 25 \times (100 - W)},$$

где:  $E$  – оптическая плотность испытуемого раствора;  $E_o$  – оптическая плотность раствора стандартного образца катехина;  $m$  – масса сырья, г;  $m_o$  – масса стандартного образца катехина, г;  $W$  – потеря в массе при высушивании, в процентах.

В случае отсутствия стандартного образца катехина для расчета целесообразно использовать теоретическое значение ее удельного показателя поглощения, равное 144, для ревеня тангутского формула (4) выглядит следующим образом:

$$X = \frac{E \times 50 \times 50 \times 100}{144 \times m \times 1 \times (100 - W)},$$

где: 144 - удельный показатель поглощения катехина.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания дубильных веществ в корнях ревеня тангутского представлены в таблице 1. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения дубильных веществ в корнях ревеня тангутского  $\pm 7.40\%$ .

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Корни ревеня тангутского содержат большое количество дубильных веществ, среди которых доминируют ратанин, катехин, глюкогаллин и галловая кислота [16-18]. С помощью спектрофотометра Unico 2800 были изучены УФ-спектры растворов водных извлечений из сырья. Использование катехина, дающего максимум поглощения при длине волны примерно около 282 $\pm 2$  нм (рис.1), как стандарта является наиболее оптимальным, поскольку он является одним из доминирующих веществ и распространен в различных других лекарственных растениях, содержащих дубильные вещества как основную группу биологически активных соединений [19, 20], а, значит, позволяет полученные данные использовать для сравнения содержания дубильных веществ в различных

Таблица 1

*Метрологические характеристики методики количественного определения дубильных веществ в корнях ревеня тангутского*

F	$\bar{X}$	S	P, %	t (P,f)	D	E, %
10	21.74	0.722	95	2.23	$\pm 1.609$	$\pm 7.40$

лекарственных растениях. Экстракция проводилась различными экстрагентами, при различных соотношениях «сырье-экстрагент», а также варьировалось время экстракции на водяной бане. При разработке методики количественного определения дубильных веществ в корнях ревеня тангутского выявлены оптимальные условия экстракции антраценпроизводных: экстрагент – вода; соотношение «сырье – экстрагент» – 1:50; время экстракции – 15 мин на водяной бане при температуре 80–90°C (рис.2).

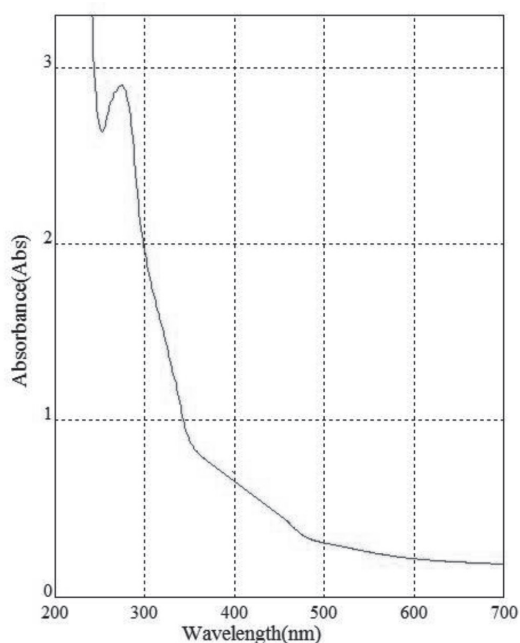


Рис. 1. Электронный спектр исходного раствора катехина

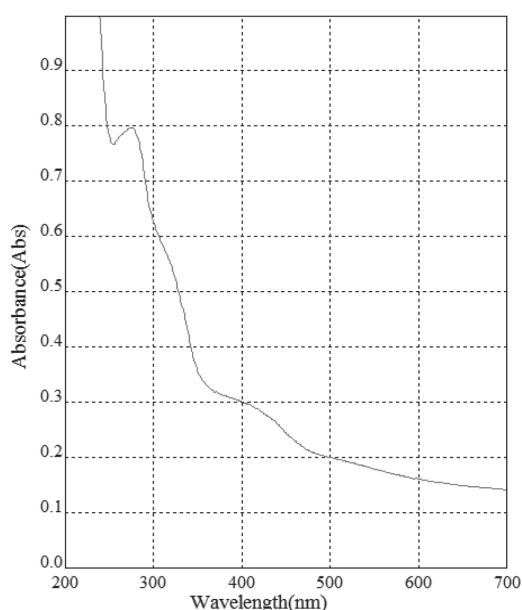


Рис. 2. Электронный спектр водного извлечения из корней ревеня тангутского

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработана методика количественного определения дубильных веществ в корнях ревеня тангутского методом спектрофотометрии в пересчете на катехин при аналитической длине волны 282±2 нм.

2. Содержание дубильных веществ в сырье, равное 21.74%, достигается применением подобранных условий экстракции: экстрагент – вода, соотношение «сырье – экстрагент» 1 к 50 и экстракцией на кипящей водяной бане в течение 15 минут.

3. Разработанная методика позволяет получить высокое содержание дубильных веществ, проста и не требует использования реактивов, поэтому может быть использована для извлечения дубильных веществ из других видов лекарственного растительного сырья.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Буданцев А.Л. Дикорастущие полезные растения России. Санкт-Петербург, СПХФА, 2001, 663 с.

2. Куркин В.А. Основы фитотерапии. Учебное пособие для студентов фармацевтических вузов. Самара, Офорт, 2009, 963 с.

3. Андреева И.И. Ботаника. Москва, КолосС, 2002, 488 с.

4. Ikhlas A.K., Ehab A.A. Leung's Encyclopedia of Common Natural Ingredients. Used in Food, Drugs, and Cosmetics. New York, WILEY, 2009, p. 845.

5. Вайс Р.Ф. Фитотерапия. Руководство. Москва, Медицина, 2004, 552 с.

6. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям. Москва, Медицина, 1990, 206 с.

7. Соколов С.Я. Фармакотерапия и фитотерапия. Руководство для врачей. Москва, Медицинское информационное агентство, 2000, 976 с.

8. Куркин В.А. Фармакогнозия. Учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). Самара, Офорт, 2007, ч.2, 1239 с.

9. Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия. Медицина, 2002, 656 с.

10. Яковлев Г.П., Блинова К.Ф. Лекарственное растительное сырье. Учебное пособие. Санкт-Петербург, СпецЛит, 2006, 464 с.

11. Минина С.А. Химия и технология фитопрепаратов. Учебное пособие. Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2009, ч.2, 560 с.

12. Гольшенков П.П. Лекарственные растения и их использование. Саранск, Мордов. Кн. Изд.

Управление по печати при Совете Министров МАССР, 1971, 380 с.

13. Thompson W.G. // *Clinical pharmacology and rational use Drugs*. 1980. Vol. 19, No. 1, pp. 49-58.

14. Государственная фармакопея Российской Федерации: Вып. 4, 14-е изд. Москва, Медицина, 2018, 3262 с.

15. Куркин В.А. // *Фармация*. 2002. Т.50(2). С. 8-16

16. Киселева Т.Л. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества. Москва,

Издательство Профессиональной ассоциации натуротерапевтов, 2009, 295 с.

17. Нуралиев В. Лекарственные растения. Душанбе, Маориф, 1988, 287 с.

18. Youngken H.W., Blakiston P.A. *Textbook of pharmacognosy*. Philadelphia, Blakiston Company, 1950, p. 1063.

19. Bruneton J. *Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants*. Paris, Lavoisier, 1995, p. 1136.

20. Пастушенков Л.В. Лекарственные растения: Использование в народной медицине и быту. Ленинград, Лениздат, 1990, 384 с.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»

\*Семенюта К. Н., ассистент кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии

E-mail: evdkn@mail.ru

Шмыгарева А. А., доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии

E-mail: a.shmygareva@mail.ru

Саньков А. Н., кандидат медицинских наук, доцент, зав. кафедрой управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии

E-mail: a.n.sankov@mail.ru

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»

Куркин В. А., доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии

E-mail: kurkinvladimir@yandex.ru

Orenburg State Medical Academy

\*Semeniuta K. N., Assistant Professor of the Department of management and Economics of pharmacy, pharmaceutical technology and pharmacognosy

E-mail: evdkn@mail.ru

Shmygareva A. A., PhD., DSci., Associate Professor; Department of Management and Economics of pharmacy, Pharmaceutical Technology and Pharmacognosy

E-mail: a.shmygareva@mail.ru

Sankov A. N., M.D., Associate Professor; head of the Department of management and Economics of pharmacy, pharmaceutical technology and pharmacognosy

E-mail: a.N.Sankov@mail.Ru

Samara State Medical University

Kurkin V. A., PhD., DSci., Full Professor, doctor of pharmaceutical Sciences, head of the Department of Pharmacognosy with Botany and the basics of Phytotherapy

e-mail: kurkinvladimir@yandex.ru

## DEVELOPMENT OF METHODS FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF TANNINS IN THE ROOTS OF *RHEUM PALMATUM*

<sup>1</sup> K.N. Semeniuta, <sup>2</sup> V.A. Kurkin, <sup>1</sup> A.A. Shmygareva, <sup>1</sup> A.N. Sankov

<sup>1</sup>Orenburg State Medical Academy

<sup>2</sup>Samara State Medical University

Abstract. In the present work are discussed the actual aspects of the development of methods of standardization of *Rheum palmatum* roots. Tannins are the second dominant group of biologically active substances in the roots of *Rheum palmatum*. The existing method of determining tannins in the roots of *Rheum*

*palmatum*, presented in the FS.2.5.0092.18 State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition, provides for the use of methods of direct permanganometric titration calculated on tannin with visual detection of the equivalence point in the form of the formation of golden-yellow staining due to the reaction of the first drop of excess potassium permanganate with indigocarmine, quite time-consuming and inaccurate. New approaches of quantitative analysis of tannins content in the roots of *Rheum palmatum*, consisting in the use of spectrophotometry method at an analytical wavelength of  $282 \pm 2$  nm calculated on catechin, are proposed. In order to maximize the extraction of tannins from the raw materials of *Rheum palmatum* were selected optimal conditions – water, the ratio of raw materials – extractant 1 to 50, extraction time in a boiling water bath – 15 minutes. UV spectra of solutions of water extracts from raw materials were studied using Unico 2800 spectrophotometer. The use of catechin, which gives a maximum absorption at a wavelength of about  $282 \pm 2$  nm, as a standard is the most optimal, since it is one of the dominant substances and is common in various other medicinal plants containing tannins as the main group of biologically active compounds, and, therefore, allows the data obtained to be used to compare the content of tannins in various medicinal plants. The content of tannins in roots the of *Rheum palmatum* under selected conditions of maximum extraction is 21.74%. The results of statistical processing of the experiments indicate that the error of a single determination of tannins in the roots of *Rheum palmatum*  $\pm 7.40\%$ . The proposed method is simple, accessible and does not require the use of a large number of reagents.

**Keywords:** *Rheum palmatum* L., roots, tannins, standardization, spectrophotometry.

## REFERENCES

1. Budancev A.L. Dikorastushchie poleznye rasteniya Rossii. Sankt-Peterburg, SPHFA, 2001, 663 p.
2. Kurkin V.A. Osnovy fitoterapii. Uchebnoe posobie dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov. Samara, Ofort, 2009, 963 p.
3. Andreeva I.I. Botanika. Moscow, KolosS, 2002, 488 p.
4. Ikhlas A.K., Ehab A.A. Leung's Encyclopedia of Common Natural Ingredients. Used in Food, Drugs, and Cosmetics. New York, WILEY, 2009, p. 845.
5. Vajs R.F. Fitoterapiya. Rukovodstvo. Moscow, Medicine, 2004, 552 p.
6. Sokolov S.YA., Zamotaev I.P. Spravochnik po lekarstvennym rasteniyam. Moscow, Medicine, 1990, 206 p.
7. Sokolov S.YA. Farmakoterapiya i fitofarmakologiya. Rukovodstvo dlya vrachej. Moscow, Medicinskoe informacionnoe agentstvo, 2000, 976 p.
8. Kurkin V.A. Farmakognoziya. Uchebnik dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov (fakul'tetov). Samara, Ofort, 2007, pt.2, 1239 p.
9. Murav'eva D.A., Samylina I.A., YAKovlev G.P. Farmakognoziya. Medicine, 2002, 656 p.
10. YAKovlev G.P., Blinova K.F. Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e. Uchebnoe posobie. Sankt-Peterburg, SpecLit, 2006, 464 p.
11. Minina S.A. Himiya i tekhnologiya fitopreparatov. Uchebnoe posobie. Moscow, GEOTAR-Media, 2009, pt.2, 560 p.
12. Golyshenkov P.P. Lekarstvennye rasteniya i ih ispol'zovanie. Saransk, Mordov. Kn. Izd. Upravlenie po pečati pri Sovete Ministrov MASSR, 1971, 380 p.
13. Thompson W.G.// Clinical pharmacology and rational use Drugs. 1980. Vol. 19, No. 1, pp. 49-58.
14. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii: Vyp. 4, 14-e izd. Moskva, Medicine, 2018, 3262 p.
15. Kurkin V.A. //Farmaciya. 2002. T.50(2). pp. 8-16.
16. Kiseleva T.L. Lekarstvennye rasteniya v mirovoj medicinskoj praktike: gosudarstvennoe regulirovanie nomenklatury i kachestva. Moscow, Izdatel'stvo Professional'noj asociacii naturoterapevtov, 2009, 295 p.
17. Nuraliev V. Lekarstvennye rasteniya. Dushanbe, Maorif, 1988, 287 p.
18. Youngken H.W., Blakiston P.A. Textbook of pharmacognosy. Philadelphia, Blakiston Company, 1950, p. 1063.
19. Bruneton J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Paris, Lavoisier, 1995, p. 1136.
20. Pastushenkov L.V. Lekarstvennye rasteniya: Ispol'zovanie v narodnoj medicine i bytu. Leningrad, Lenizdat, 1990, 384 p.