

УДК 581.192:54.062:543.422.3

**СОДЕРЖАНИЕ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЛИСТЬЯХ
КАМПСИСА УКОРЕНЯЮЩЕГОСЯ****THE CONTENT OF TANNINS IN THE CAMPSIS RADICANS LEAVES****М.А. Бжихатлова, О.А. Андреева
M.A. Bzhikhatlova, O.A. Andreeva***Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России,
Россия, 357532, Пятигорск, проспект Калинина, 11**Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of the Volgograd State Medical University
Russia, 357532, Pyatigorsk, Kalinina Av., 11**E-mail: madina.bzhikhatlova@mail.ru*

Аннотация. Качественными реакциями установлено наличие дубильных веществ в водном и 40% водно-спиртовом извлечениях из листьев кампсиса укореняющегося. Количественное определение содержания дубильных веществ в 40% спиртовом и водном извлечениях проведено двумя методами: спектрофотометрическим (метод 1) и перманганатометрическим (метод 2). При сравнении осаждающей способности двух реактивов – 1% раствора желатина в 10% растворе натрия хлорида и 1% раствора коллагена в 1% растворе уксусной кислоты, выявлено, что лучшим осаждающим реагентом является 1% раствор коллагена в 1% растворе уксусной кислоты.

Содержание дубильных веществ в извлечениях при осаждении 1% раствором коллагена в 1% растворе уксусной кислоты составляет по методу 1 в водном извлечении – $0.26\% \pm 0.0042$, а по методу 2 – $1.14\% \pm 0.0500$; в извлечении, полученном экстракцией 40% спиртом этиловым – $0.55\% \pm 0.0072$ (метод 1) и $2.06\% \pm 0.0713$ (метод 2).

Resume. Qualitative tests revealed the presence of tannins in the water and 40% aqueous-alcoholic extracts of the leaves of *Campsis radicans*. Quantitative determination of the content in tannins and 40% aqueous alcoholic extracts performed by two methods: spectrophotometric (method 1) and the permanganometric (method 2). If precipitating abilities compared two reagents: 1% gelatin solution at 10% sodium chloride and 1% collagen solution in 1% acetic acid revealed that the precipitating reagent is best 1% collagen solution in 1% acetic acid.

Tannin content in extracts in the deposition of collagen 1% solution in 1% acetic acid is one according to the method 1 in aqueous izlechenii- $0.26\% \pm 0.0042$, and $1.14\% \pm 0.0500$ method 2; to extract obtained by extraction with 40% alcohol etilovym- $0.55\% \pm 0.0072$ (method 1) and $2.06\% \pm 0.0713$ (method 2).

Ключевые слова: листья кампсиса укореняющегося, количественное определение, дубильные вещества, спектрофотометрический метод, перманганатометрический метод.

Keywords: campsis radicans leaves, quantitative determination, tannins, spectrophotometric method, permanganometric method.

Введение

В связи с возникшей в стране необходимостью импортозамещения многих лекарственных препаратов актуальной задачей является поиск новых сырьевых источников биологически активных веществ. С этой точки зрения особый интерес представляют растения, используемые в народной или официальной медицине при лечении ряда заболеваний и имеющие достаточную сырьевую базу. Одним из таких растений является кампсис укореняющийся (*Campsis radicans*, *Bignonia campsis*) – листопадная древеснеющая лиана семейства Бигнониевые, который в качестве декоративной культуры выращивается в южных регионах России [Тахтаджян, 1981].

Имеются сведения о способности различных извлечений из цветков и листьев кампсиса укореняющегося и кампсиса крупноцветного ингибировать агрегацию тромбоцитов и обратную транскриптазу, проявлять инсулиномиметическую, инсулинсенсibiliзирующую и антирадикальную виды активности [Richard, 2011; Патент Южной Кореи №WO2013157697, 2013]. О химическом составе этих растений сведения немногочисленные.

Ранее нами методом ВЭЖХ в 40% водно-спиртовом извлечении из листьев кампсиса укореняющегося было доказано наличие ряда фенольных соединений, в том числе танина, эпикатехина и галловой кислоты [Бжихатлова и др., 2015].

Цель

Целью данного исследования явилось определение количественного содержания дубильных веществ в листьях кампсиса укореняющегося.



Материалы и методы

В качестве объекта изучения были использованы листья кампсиса укореняющегося, собранные в 2015 году в период цветения.

Наличие дубильных веществ подтверждено качественными реакциями с 1% раствором желатина, 1% раствором хинина сульфата, раствором железосамонийных квасцов в водном и 40% водно-спиртовом извлечениях, полученных экстракцией сырья соответствующим растворителем.

Количественное содержание суммы дубильных веществ определяли перманганатометрическим [ГФ XI, Иванов, Денисенко, 2014] и спектрофотометрическим [Патент РФ № 243928] методами.

Спектрофотометрический метод (*метод 1*). Определение оптической плотности растворов осуществляли на спектрофотометре СФ-103. Около 2 г сырья (точная навеска) измельченного сырья – листьев кампсиса укореняющегося, просеянного сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм, помещали в колбу вместимостью 500 мл, заливали 250 мл нагретым до кипения экстрагентом (водой или спиртом этиловым) и нагревали на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 минут при периодическом перемешивании. Охлаждали до комнатной температуры, доводили водой до 250 мл, процеживали через вату (первые 50 мл фильтрата отбрасывали). Затем 1 мл извлечения помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили водой до метки (раствор 1). Измеряли оптическую плотность раствора 1 при длине волны 277 нм. В качестве растворов сравнения использовали воду или 40% спирт этиловый, соответственно. Далее проводили осаждение дубильных веществ. Для этого 30 мл извлечения помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли 7 мл реактива осаждения, взбалтывали 60 минут, отстаивали, фильтровали. 1 мл полученного фильтрата переносили в колбу объемом 50 мл, доводили до метки соответствующим растворителем (раствор 2). Измеряли оптическую плотность раствора 2 при длине волны 277 нм. В качестве растворов сравнения использовали соответственно воду или 40%-ный спирт этиловый.

Суммарное содержание дубильных веществ в растворе 1 определяли в пересчете на галловую кислоту. Расчет в процентах проводили по формуле 1:

$$X_1 = \frac{D_1 \times 250 \times 50 \times 100}{m_{\text{нав}} \times V_a \times 508 \times (100 - W)} \quad (1),$$

где:

X_1 – содержание суммы дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту, %;

D_1 – оптическая плотность раствора 1;

$m_{\text{нав}}$ – масса навески сырья, г;

V_a – объем аликвотной пробы, мл;

250 – общий объем извлечения, мл;

508 – удельный показатель поглощения галловой кислоты (оптическая плотность 1% раствора галловой кислоты 1 мг/мл);

50 – объем колбы, мл;

W – потеря в массе при высушивании, %.

Содержание дубильных веществ, осаждаемых раствором осаждения, в пересчете на галловую кислоту (X_2), в листьях кампсиса определяли как разницу между содержанием дубильных веществ в растворах 1 и 2.

$$X_2 = \frac{(D_1 - D_2) \times 250 \times 50 \times 100}{m_{\text{нав}} \times 508 \times (100 - W)} \quad (2),$$

где:

X_2 – содержание осаждаемых дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту, %;

D_1 – оптическая плотность раствора 1;

D_2 – оптическая плотность раствора 2;

$m_{\text{нав}}$ – масса навески сырья, г;

V_a – объем аликвотной пробы, мл;

250 – общий объем извлечения, мл;

508 – удельный показатель поглощения галловой кислоты (оптическая плотность 1% раствора галловой кислоты 1 мг/мл);

50 – объем колбы, мл;

W – потеря в массе при высушивании, %.

Перманганатометрический метод (метод 2). Точную навеску (около 2 г) измельченных листьев кампсиса укореняющегося просеивали через сито диаметром 3 мм, помещали в коническую колбу объемом 500 мл, заливали 250 мл экстрагента (водой или 40%-ным спиртом этиловым) и кипятили с обратным холодильником на кипящей водяной бане 30 минут при периодическом перемешивании. Жидкость охлаждали до комнатной температуры, процеживали в коническую колбу вместимостью 250 мл и доводили соответствующим растворителем до метки. Далее 25 мл извлечения помещали в коническую колбу объемом 1 л, прибавляли 500 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титровали при постоянном перемешивании раствором калия перманганата.



та(0.02 моль/л) до золотисто-жёлтого цвета. Параллельно проводили контрольный опыт. Содержание дубильных веществ в процентах рассчитывали по формуле 3:

$$X_3 = \frac{(V_1 - V_0) \times 0.004157 \times 100 \times 100 \times 100}{m \times 10 \times (100 - W)} \quad (3)$$

где:

V – объём раствора калия перманганата (0.02 моль/л), израсходованного на титрование извлечения, мл;

V₁ - объём раствора калия перманганата (0.02 моль/л), израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

0.004157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл раствора калия перманганата (0.02 моль/л) в пересчёте на танин, г;

W – потеря в массе при высушивании, %

250 – общий объём извлечения, мл.

Далее проводили осаждение дубильных веществ. Образовавшийся осадок отфильтровывали, 10 мл фильтрата титровали раствором калия перманганата по вышеописанной методике. Расчёт оставшихся в растворе окисляющихся веществ проводили по формуле (4):

$$X_4 = \frac{(V_2 - V_0) \times 0.00415 \times 100 \times 100 \times 100}{m \times 10 \times (100 - W)} \quad (4)$$

где:

V₂ – объём раствора калия перманганата (0.02 моль/л), израсходованного на титрование извлечения после осаждения, мл

Концентрацию дубильных веществ в процентах (X₅) рассчитывали по формуле (5):

$$X_5 = X_3 - X_4 \quad (5)$$

Результаты представлены в таблице.

Таблица
Table

Количественное содержание дубильных веществ в извлечениях из листьев кампсиса укореняющегося
The quantitative content of tannins in extracts from the leaves of *Campsis radicans*

Исследуемое извлечение	Метод 1 (Спектрофотометрический)				Метод 2 (Перманганатометрический)			
	Найдено, %	Метрологические характеристики	Найдено, %	Метрологические характеристики	Найдено, %	Метрологические характеристики	Найдено, %	Метрологические характеристики
Водное	0.100	X _{ср} =0.11	0.267	X _{ср} =0.26	0.70	X _{ср} =0.69	1.21	X _{ср} =1.14
	0.106	S=0.0036	0.259	S=0.0040	0.65	S=0.0286	1.07	S=0.0476
	0.108	Sx=0.0015	0.263	Sx=0.0016	0.67	Sx=0.0117	1.16	Sx=0.0195
	0.107	ΔX=0.0037	0.265	ΔX=0.0042	0.69	ΔX=0.0300	1.11	ΔX=0.0500
	0.110	X±ΔX=0.11±0.0037	0.270	X±ΔX=0.26±0.0042	0.73	X±ΔX=0.69±0.0300	1.12	X±ΔX=1.14±0.0500
	0.109	Еотн, %=3.50	0.261	Еотн, %=1.60	0.71	Еотн, %=4.33	1.14	Еотн, %=4.40
Водно-спиртовое (40% водный этанол)	0.515	X _{ср} =0.50	0.545	X _{ср} =0.55	1.61	X _{ср} =1.60	2.10	X _{ср} =2.06
	0.521	S=0.0143	0.556	S=0.0069	1.58	S=0.0520	2.08	S=0.0679
	0.489	Sx=0.0058	0.560	Sx=0.0028	1.67	Sx=0.0212	2.15	Sx=0.0277
	0.492	ΔX=0.0150	0.554	ΔX=0.0072	1.52	ΔX=0.0546	2.06	ΔX=0.0713
	0.488	X±ΔX=0.50±0.0150	0.548	X±ΔX=0.55±0.0072	1.57	X±ΔX=1.60±0.0546	2.03	X±ΔX=2.06±0.0713
	0.495	Еотн, %=3.00	0.563	Еотн, %=1.30	1.63	Еотн, %=3.42	1.95	Еотн, %=3.46
Реактив осаждения	1% раствор желатина в 10% растворе натрия хлорида		1% раствор коллагена в 1% уксусной кислоте		1% раствор желатина в 10% растворе натрия хлорида		1% раствор коллагена в 1% уксусной кислоте	

Результаты и обсуждение

Существуют различные методы количественного определения дубильных веществ, среди которых распространены два - титриметрический (перманганатометрический метод Левентали в модификации А.Л. Курсанова) и УФ-спектрофотометрический. Оба метода, использованные нами в работе, основаны на предварительном определении в анализируемых образцах суммы полифенольных соединений с последующим осаждением дубильных веществ в виде нерастворимых комплексов. Из перечня осадительных реактивов нами использованы 1% раствор желатина в 10% растворе натрия хлорида и 1% раствор коллагена в 1% растворе уксусной кислоты [Мавлянов и др., 2001; Тюлькова и др., 2014]. Мы сравнивали осаждающую способность 1% раствора желатина в 10% растворе натрия хлорида и 1% раствора коллагена в 1% растворе уксусной кислоты. Расчеты свидетельствуют о том, что более высокое содержание дубильных веществ определяется при использовании в качестве осадителя 1% раствора коллагена в 1% растворе уксусной кислоты.



Полученные результаты свидетельствуют о том, что содержание дубильных веществ в водном и водно-спиртовом извлечениях, вычисленных спектрофотометрическим методом практически не зависит от реактива осаждения и отличается незначительно. Однако, перманганатометрический метод показал, что 40% водно-спиртовое извлечение содержит дубильных веществ в 1.8 раза больше водного, причём коллаген оказался более эффективным реактивом осаждения по сравнению с желатином. Возможно, разница в полученных результатах объясняется тем, что в первом случае расчет определения проводили в пересчете на галловую кислоту. То, что результаты несколько занижены объясняется тем, что определяемые вещества в большей степени относятся к гидролизуемым дубильным веществам, в то время как в растениях обычно присутствует смесь гидролизуемых и конденсированных танинов. Однако перманганатометрический метод также не лишён недостатков, и, в первую очередь, из-за субъективной оценки перехода окраски титруемого раствора.

Выводы

Проведёнными исследованиями установлено, что листья кампсиса укореняющегося содержат дубильные вещества, содержание которых в зависимости от используемого метода и реактива осаждения составляет:

- в водном извлечении при осаждении желатином 0.11 ± 0.0037 (метод 1), $0.69\% \pm 0.0300$ (метод 2); при осаждении коллагеном – $0.26\% \pm 0.0042$ (метод 1), $1.14\% \pm 0.0500$ (метод 2)
- в извлечении, полученном экстракцией 40% спиртом этиловым при осаждении желатином $0.50\% \pm 0.0150$ (метод 1), 1.60 ± 0.0546 (метод 2); при осаждении коллагеном – $0.55\% \pm 0.0072$ (метод 1) и $2.06\% \pm 0.0713$ (метод 2).

Более эффективным реактивом осаждения для танинов кампсиса является коллаген.

Список литературы References

- Бжихатлова М.А., Андреева О.А., Оганесян Э.Т., Воронков А.В., Геращенко А.Д. 2015. Фенольные соединения листьев кампсиса укореняющегося. Современные проблемы науки и образования, 2-2. Электронный журнал. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22562>
- Bzhikhatlova M.A., Andreeva O.A., Oganesyanyan E.T., Voronkov A.V., Gerashchenko A.D. 2015. Fenol'nye soedineniya list'ev kampsisa ukorenayushchegosya [Phenolic connections of leaves of the kampsis which is taking roots]. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya, 2-2. Elektronnyy zhurnal. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22562>. (in Russian)
- Государственная фармакопея СССР. 1990. X 1 издание. Вып. 2. М. - «Медицина»: 397.
- Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR. 1990. [State pharmacopeia of the USSR] Kh 1 izdanie. Vyp. 2. M. - «Meditsina»: 397. (in Russian)
- Иванов В.В., Денисенко О.Н. 2014. Количественное определение дубильных веществ в траве горца сахалинского, интродуцированного в условиях кавказских минеральных вод, различными аналитическими методами. Современные проблемы науки и образования, 6. Электронный журнал. URL: www.science-education.ru/120-16511.
- Ivanov V.V., Denisenko O.N. 2014. Kolichestvennoe opredelenie dubil'nykh veshchestv v trave gortsa sakhalinskogo, introdutsirovannogo v usloviyakh kavkazskikh mineral'nykh vod, razlichnymi analiticheskimi metodami [Quantitative definition of tannins in a grass of the mountaineer Sakhalin, introduced in the conditions of Caucasus Mineralnye Vody region, various analytical methods]. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya, 6. Elektronnyy zhurnal. URL: www.science-education.ru/120-16511. (in Russian)
- Мавлянов С.М. Исламбеков Ш.Ю., Исмаилов А.И., Далимов Д.Н., Абдулладжанова Н.Г. 2001. Растительные дубильные вещества. Химия природных соединений. 1: 3 – 22.
- Mavlyanov S.M. Islambekov Sh.Yu., Ismailov A.I., Dalimov D.N., Abdulladzhanova N.G. 2001. Rastitel'nye dubil'nye veshchestva [Vegetable tannins]. Khimiya prirodnykh soedineniy. 1: 3 – 22. (in Russian)
- Самылина И.А. Гринько Е. Н., Абойанц Р. К. 2010. Способ определения дубильных веществ в растительном сырье. Патент РФ № 243928. Электронный документ. URL: <http://www.findpatent.ru/patent/243/2439568.html>.
- Samylina I.A. Grin'ko E. N., Aboiyants R. K. 2010. Sposob opredeleniya dubil'nykh veshchestv v rastitel'nom syr'e [Way of definition of tannins in vegetable raw materials]. Patent RF № 243928. Elektronnyy dokument. URL: <http://www.findpatent.ru/patent/243/2439568.html>. (in Russian)
- Тахтаджян А. Л. 1981. Жизнь растений. Т. 5. Цветковые растения, ч. 2. М. - «Просвещение»: 427 – 431.
- Takhtadzhyan A. L. 1981. Zhizn' rasteniy [Life of plants]. T. 5. Tsvetkovyye rasteniya, ch. 2. M. - «Prosveshchenie». 427 – 431. (in Russian)
- Тюлькова Ю.А. Рязанова Т.В., Еременко О.Н. 2014. Модификация всесоюзного единого метода для определения содержания дубящих веществ в экстрактах коры хвойных. Journal of Siberian Federal University. Chemistry 2, 7: 298-305.
- Tyul'kova Yu.A. Ryazanova T.V., Eremenko O.N. 2014. Modifikatsiya vsesoyuznogo edinogo metoda dlya opredeleniya sodержaniya dubyashchikh veshchestv v ekstraktakh kory khvoynykh [Modification of an all-Union uniform method for determination of content of the tanning substances in extracts of bark of coniferous]. Journal of Siberian Federal University. Chemistry 2, 7: 298-305. (in Russian)
- Campsis grandiflora grandiflora extract having hiv proliferation inhibiting activity, and agent for treatingmnaids comprising same as active ingredient 2013. Patent Yuzhnoy Korei № WO2013157697
- Richard. 2011. Pharmacological Actions of Roots, Stems and Leaves from Campsis Plants [Elektronnyy resurs]. URL: <http://www.lifome.com/blog/32/pharmacologica-actions-roots-stems-leaves-campsis-plants.html>. - Zagl. s ekrana.The content of tannins in the campsis radicans leaves