

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЕЩЕСТВ ПОЛИФЕНОЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ В НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЯХ СОЛОВЕЦКОГО АРХИПЕЛАГА

О.Г. СТРУСОВСКАЯ

*Северный государственный медицинский  
университет,  
г. Архангельск*

*e-mail:Strolz@yandex.ru*

Экспериментально подобраны условия определения дубильных веществ в образцах воздушно-сухого сырья некоторых дикорастущих растений Соловецкого архипелага. Установлено, что все исследуемые образцы содержат как гидролизуемые, так и конденсированные танины. Наибольшее количество дубильных веществ определено в образце *Vaccinium vitis-idaea*

Ключевые слова: дубильные вещества, метод Фолина-Чокальтеу, гидролизуемые танины, конденсированные танины

Дубильные вещества или танины представляют собой соединения полифенольной структуры, подразделяющиеся на гидролизуемые и конденсированные. Для конденсированных танинов (проантоцианидинов), характерны гастропротекторная [1], антиоксидантная, антимуtagenная, противоопухолевая, антибактериальная и противовирусная активность [2]. Гидролизуемые танинины оказывают противокандидозное [3], антифиброзное [4] действия, ингибируют ВИЧ-индуцированный цитопатический эффект в отличие от конденсированных танинов [5] и т.д. Дубильные вещества проявляют активность в отношении метициллин-резистентного золотистого стафилококка и вируса Эпштейна-Барра [6]. Наличие широкого спектра фармакологического действия обуславливает необходимость определения данной группы соединений в лекарственном растительном сырье.

Целью настоящего исследования являлось изучение дубильных веществ в образцах воздушно-сухого дикорастущего растительного сырья, собранного летом 2011 г., на островах Соловецкого архипелага.

В качестве изучаемых объектов использовали воздушно-сухое сырье: листья *Cochlearia officinalis* (*Cruciferae* L.) и *Vaccinium vitis-idaea* (*Ericaceae* L.); траву *Capsella bursa-pastoris* (*Cruciferae* L.) и *Linnaea borealis* (*Linnaeaceae* L.).

Определение полифенольных соединений проводили методом Фолина-Чокальтеу в модификации Маккаг [7], позволяющим исключить вклад фенольных соединений, свободных от танинов, при количественном анализе дубильных веществ. Условия проведения анализа были подобраны экспериментально для каждого вида исследуемого сырья. С этой целью около 2 г измельченного и просеянного через лабораторные сита С30/50 (ГОСТ 3826-82) с размером отверстий 1 мм, воздушно-сухого сырья, (для *Vaccinium vitis-idaea* около 0,5 г) (точная масса) помещали в конические колбы со шлифом, прибавляли по 50 мл [7] смеси: ацетон (ТУ 6-09-3513-82)-вода очищенная (ФС 42-2619-97) (вода), в соотношении 7:3 по объему (70% раствор ацетона). Колбы закрывали стеклянными пришлифованными крышками и помещали на лабораторное перемешивающее устройство ЛАБ-ПУ-02 (Россия) на 60 мин. Полученные извлечения фильтровали в мерные колбы вместимостью 50 мл через бумажный фильтр «синяя лента» (ТУ 03-11-03), и объем растворов в колбах доводили до метки 70% раствором ацетона. По 25 мл полученных растворов, переносили пипеткой в мерные колбы вместимостью 50 мл. Объем растворов в колбах доводили до метки 70% раствором ацетона (раствор А).

В мерные колбы вместимостью 10 мл помещали раствор А: 20 мкл для *Linnaea borealis*; 50 мкл для *Vaccinium vitis-idaea*; 100 мкл для *Capsella bursa-pastoris* и 300 мкл для *Cochlearia officinalis*. В каждую колбу прибавляли по 2 мл воды, 0,25 мл реактива Фолина-Чокальтеу и 1,25 мл 20% раствора натрия карбоната. Объем растворов в колбах доводили водой до метки. Колбы герметично укупоривали и выдерживали при комнатной температуре в течение 40 мин в защищенном от света месте. Оптическую плотность исследуемых растворов определяли относительно раствора сравнения,

представляющего собой смесь реагентов, приготовленную аналогично исследуемым растворам (раствор В).

Содержание суммы полифенольных соединений в полученных экстрактах рассчитывали по градуировочному графику (рис. 1) с учетом фактора разведения и пересчетом на абсолютно сухое сырье.

Для построения градуировочного графика использовали 0,1 мг/мл раствор (PCO) танина (Sigma Aldrich CAS 1401-55-4). С этой целью 0,05 г (точная масса) танина помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 30 мл воды и объем в колбе доводили тем же растворителем до метки. 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 10 мл. Объем раствора в колбе доводили водой до метки (раствор Б).

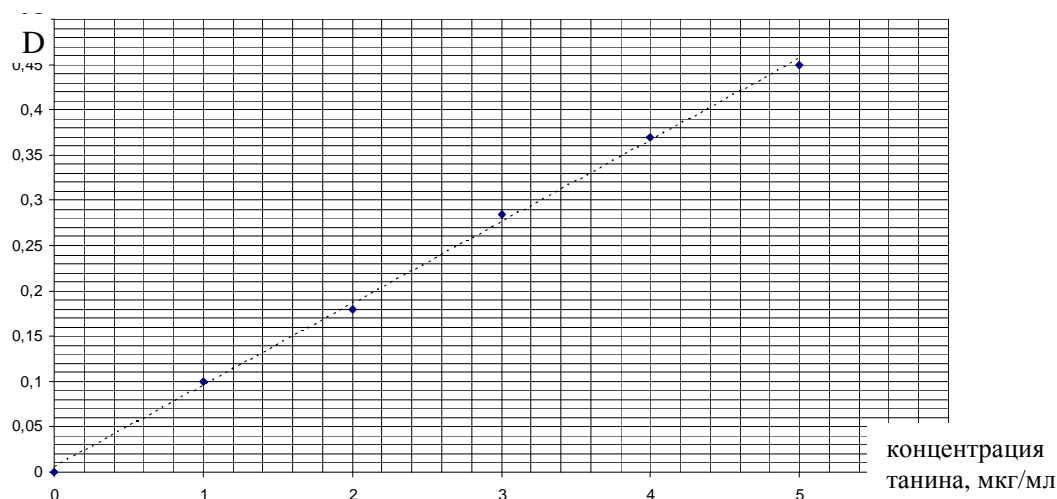


Рис. 1. Градуировочный график раствора PCO танина

Серию растворов, содержащих по 1; 2; 3; 4; 5 мкг/мл PCO танина готовили, помещая навески раствора Б в мерные колбы вместимостью 10 мл, прибавляли реактив Фолина-Чокалтеу и 20% водный раствор натрия карбоната (ГОСТ 83-79), объем растворов в колбе доводили водой до метки (табл. 1).

Таблица 1

#### Приготовление растворов PCO танина для построения градуировочного графика

раствор Б, мл	вода, мл	реактив Фолина-Чокалтеу, мл	раствор натрия карбоната 20%, мл	содержание танина в растворе, мкг/мл	оптическая плотность раствора
0	2,0	0,25	1,25	0	0
0,1	2,0	0,25	1,25	1	0,112
0,2	2,0	0,25	1,25	2	0,218
0,3	2,0	0,25	1,25	3	0,285
0,4	2,0	0,25	1,25	4	0,371
0,5	2,0	0,25	1,25	5	0,449

Растворы перемешивали, колбы укупоривали и выдерживали при комнатной температуре в защищенном от света месте в течение 40 мин, после чего определяли их оптическую плотность на спектрофотометре СФ-56А (Россия) в кварцевых кюветках с толщиной слоя 1 см при длине волны 725 нм относительно раствора сравнения. Раствор сравнения представлял собой смесь реагентов без добавления PCO танина (раствор В).

Результаты количественного определения суммы полифенольных соединений в исследуемых растительных образцах представлены в табл.2.

Сумму фенольных соединений, не содержащих танины, определяли по реакции связывания танинов с поливинилпирролидоном (ПВП) (Sigma-Aldrich P6755). С этой целью по 0,2 г ПВП помещали в центрифужные пробирки, прибавляли по 2,0 мл воды и по 2,0 мл исследуемых экстрактов. Полученные смеси перемешивали, пробирки укупоривали и выдерживали в холодильнике при 4° С в течение 15 мин. Смеси вновь перемешивали, пробирки помещали в лабораторную центрифугу ОПН-8. Смеси центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об/мин. Полученные супернатанты в количествах 40 мкл для *Linnaea borealis*; 100 мкл для *Vaccinium vitis-idaea*; 200 мкл для *Capsella bursa-pastoris* и 300 мкл для *Cochlearia officinalis* помещали в мерные колбы вместимостью 10 мл и далее поступали так же как и при определении суммы полифенольных соединений.

Концентрацию фенольных соединений, не содержащих танины, рассчитывали по градуировочному графику, аналогично расчету суммы фенолов и танинов. Результаты представлены в табл. 2.

С целью определения проантоцианидинов по 0,5 мл растворов А помещали в термостойкие мерные колбы со шлифом вместимостью 10 мл, прибавляли по 3 мл смеси, состоящей из 95 мл н-бутанола (ГОСТ 6006-78) и 5 мл кислоты хлористоводородной концентрированной (ГОСТ 3118-77) и по 0,1 мл 2% раствора квасцов железоаммонийных в 2 Моль/л растворе кислоты хлористоводородной. Полученные смеси перемешивали, закрывали пробкой и помещали на кипящую водяную баню на 1 час, после охлаждения объем растворов в колбах доводили до метки 70% раствором ацетона и измеряли оптическую плотность полученных растворов при длине волны 550 нм относительно раствора сравнения, представляющего собой такую же смесь, без нагревания. Содержание проантоцианидинов (%) в пересчете на лейкоцианидин, рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{D_{550} \cdot F \cdot 100}{a \cdot E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot (100 - b)}, \text{ где}$$

D - оптическая плотность исследуемого раствора при длине волны 550 нм;

F- фактор разведения;

a - масса навески, г;

b- потеря в массе при высушивании, %

$E_{1\text{см}}^{1\%} = 460$  - удельный показатель поглощения лейкоцианидина [7].

Результаты количественного определения проантоцианидинов в исследуемом сырье представлены в табл.2.

Содержание гидролизуемых танинов рассчитывали по разнице суммы танинов и проантоцианидинов (табл.2).

В ходе проведенных исследований было установлено, что наибольшее количество дубильных веществ содержится в образцах листьев *Vaccinium vitis-idaea*, причем содержание гидролизуемых танинов почти в 10 раз превышает таковое в образцах *Capsella bursa-pastoris* и *Cochlearia officinalis* и в 3 раза больше, чем в *Linnaea borealis*-растении, широко используемым в народной медицине в качестве противоопухолевого средства.

Содержание в этом же сырье проантоцианидинов почти в двадцать раз превышает их количество в исследуемых образцах *Linnaea borealis* и *Capsella bursa-pastoris*, и более чем в 8 раз в *Cochlearia officinalis*.

Присутствие в изучаемых видах растительного сырья гидролизуемых и конденсированных танинов обуславливает перспективность дальнейшего более глубокого изучения их фармакологической активности.

Таблица 2

Результаты количественного определения дубильных веществ в исследуемых образцах растительного сырья\*

Наименование исследуемого образца	Определяемый показатель						
	Сумма полифенольных соединений, %	Метрологические характеристики	Сумма фенольных соединений, не содержащих танины, %	Метрологические характеристики	Содержание проантоцианидинов, %	Метрологические характеристики	Содержание гидролизуемых танинов, %
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	7,73	$\bar{x} = 7,73$ $S_{\bar{x}} = 1,051$ $\Delta x = 0,130$ $\varepsilon = \pm 1,68\%$	0,34	$\bar{x} = 0,34$ $S_{\bar{x}} = 0,006$ $\Delta x = 0,014$ $\varepsilon = \pm 4,26\%$	1,79	$\bar{x} = 1,79$ $S_{\bar{x}} = 0,013$ $\Delta x = 0,034$ $\varepsilon = \pm 1,88\%$	5,59
<i>Linnaea borealis</i>	2,08	$\bar{x} = 2,08$ $S_{\bar{x}} = 0,027$ $\Delta x = 0,069$ $\varepsilon = \pm 3,32\%$	0,09	$\bar{x} = 0,09$ $S_{\bar{x}} = 0,002$ $\Delta x = 0,005$ $\varepsilon = \pm 6,25\%$	0,10	$\bar{x} = 0,10$ $S_{\bar{x}} = 0,002$ $\Delta x = 0,006$ $\varepsilon = \pm 5,79\%$	1,89
<i>Cochlearia officinalis</i>	1,33	$\bar{x} = 1,33$ $S_{\bar{x}} = 0,019$ $\Delta x = 0,051$ $\varepsilon = \pm 3,85\%$	0,66	$\bar{x} = 0,66$ $S_{\bar{x}} = 0,042$ $\Delta x = 0,044$ $\varepsilon = \pm 6,74\%$	0,22	$\bar{x} = 0,22$ $S_{\bar{x}} = 0,005$ $\Delta x = 0,013$ $\varepsilon = \pm 6,03\%$	0,45
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	0,68	$\bar{x} = 0,68$ $S_{\bar{x}} = 0,012$ $\Delta x = 0,031$ $\varepsilon = \pm 4,61\%$	0,05	$\bar{x} = 0,05$ $S_{\bar{x}} = 0,001$ $\Delta x = 0,003$ $\varepsilon = \pm 6,67\%$	0,13	$\bar{x} = 0,13$ $S_{\bar{x}} = 0,002$ $\Delta x = 0,006$ $\varepsilon = \pm 4,43\%$	0,49

\*Результаты количественного определения для каждого объекта получены в шести повторностях; статистическая обработка проведена с помощью программного комплекса SPSS for Windows 11.0.1. ( $f = 5$ ;  $P = 0,95$ )

## Литература

1. Ezaki N. Pharmacological Studies on *Linderae umbellatae* Ramus, IV\*. Effects of Condensed Tannin Related Compounds on Peptic Activity and Stress-Induced Gastric Lesions in Mice/ N. Ezaki, M. Kato, N. Takizawa, S. Morimoto et al//J. Planta Med.-1985.-Vol. 51.-N1.-P.34-38.
2. Pieters L. Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities/by De Bruyne T., L.Pieters, H. Deelstra, A.Vlietinck//J. Biochem. Syst. and Ecol.-1999.-Vol.-27.-N4.-P.445-459.
3. Hong L. S. Gallic acid: An anticandidal compound in hydrolysable tannin extracted from the barks of *Rhizophora apiculata* Blume/L.S. Hong, D. Ibrahim, J. Kassim, S. Sulaiman// J. of Appl. Pharm. Sci.- 2011.-Vol.01.-No6.-P.75-79.
4. Chuang H.Y. Hydrolysable tannins of tropical almond show antifibrotic effects in TGF- $\beta$ 1-induced hepatic stellate cells/H.Y.Chuang, L.T. Ng, L.T. Lin, J.S. Chang et al//J. Sci.Food Agric.-2011.-Vol.91.-N.15.-P.2777-2784.
5. Okuda T. Chemistry and biology of ellagitannins. An underestimated class of bioactive plant polyphenols/edit. by Quideau S.,T. Okuda, T. Yoshida, T. Hatanoc, H. Itoc// World Scien.-, 2009.-374 p.
6. Okuda T. Tannins of constant structure in medicinal and food plants—hydrolyzable tannins and polyphenols related to tannins/T. Okuda, I. Hideyuki//J. Molecules.-2011.-N16.-P. 2191-2217.
7. Quantification of Tannins in Tree Foliage /FAO/IAEA Working Document. IAEA.-Vienna. 2000.- 26 p.

## DETERMINATION OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN SOME PLANTS OF SOLOVETSKY ARCHIPELAGO

<p>STRUSOVSKAYA O.G.</p> <p><b><i>The Northern State Medical University, Arkhangelsk</i></b></p> <p><b><i>e-mail:Strol3@yandex.ru</i></b></p>	<p>Conditions of definition of tannins in samples of air-dry raw material of some wild plants of Solovetsky Archipelago were chosen experimentally. It was established that all the samples contain both hydrolyzable and condensed tannins. The greatest amount of tannins was determined in the sample <i>Vaccinium vitis-idaea</i>.</p> <p>Keywords: tannins, the method of Folin-Chokalteu, hydrolyzable tannins, condensed tannins</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

<p><b><i>Струсовская О.Г.</i></b></p>	<p>Кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации и фармакологии Северного государственного медицинского университета 163000, г. Архангельск, пр. Троицкий, 51 Северный государственный медицинский университет e-mail:Strol3@yandex.ru, тел.8-909-554-23-48</p>
---------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------