

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования "Красноярский государственный медицинский
университет имени профессора В.Ф.Войно-Ясенецкого" Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Медико-психолого-фармацевтический факультет

Кафедра фармацевтической технологии и фармакогнозии с курсом ПО

Курсовая работа по фармакогнозии

«Обзор методов анализа дубильных веществ в ЛРС»

Выполнил:

Студентка 402 группы

Мамаева Екатерина Александровна

Проверил: к.х.н., доцент

Булгакова Надежда Анатольевна



Красноярск - 2019

Оглавление	3
Введение	4
Характеристика дубильных веществ	4
Классификация	6
ЛРС содержащее дубильные вещества	7
Фармакопейные представители	9
Не фармакопейные представители	9
Методы определения дубильных веществ	10
Фармакопейные методы	10
Титриметрический метод	11
Спектрофотометрический метод	12
Титрование раствором желатина	12
Фотоэлектрокалориметрический метод	13
Хроматографический метод	13
Потенциометрический метод	13
Кулонометрический метод	13
Экспресс методы	14
Выводы	15
Список литературы	15

Введение

Дубильные вещества— весьма распространённая группа биологически активных веществ растений, обладающая различными фармакологическими свойствами. Большое число семейств лекарственного растительного сырья содержат дубильные вещества, а лекарственные растения, содержащие дубильные вещества произрастают повсеместно. Основными свойствами дубильных веществ являются: вяжущее, противовоспалительное и кровоостанавливающее. Сырьё, обладающее такими свойствами, широко используется, как в официальной медицине, так и в народной. Исходя из вышесказанного можно сделать вывод, что актуальность данной темы заключается в том, что необходимо знать какие методы анализа дубильных веществ существуют и как правильно подобрать метод исходя из свойств этих веществ.

Цель работы: обзор методов анализа дубильных веществ в лекарственном растительном сырье.

Задачи: Анализ научных статей и литературы, изучение методов анализа дубильных веществ.

Характеристика дубильных веществ

Дубильные вещества, известные также как танины, представляют собой биологически активные соединения, вторичные метаболиты, вырабатываемые растениями в процессе их жизнедеятельности и являющиеся промежуточным продуктом обмена веществ. Это аморфные, водо- и спирторастворимые, легко окисляющиеся, нетоксичные продукты, темнеющие на открытом воздухе за счет поглощения содержащегося в нем кислорода.

Помимо участия в обменных процессах, дубильные вещества выполняют защитные функции в растениях, предохраняя от губительного действия ультрафиолетового излучения, предотвращая повреждение их травоядными животными и различными патогенами, а также играют роль природных пестицидов. Они входят в состав корней, листьев, коры, древесины, плодов, семян и других частей растений. Дубильные вещества придают характерный аромат и терпко-вяжущий вкус некоторым продуктам питания, поэтому хорошо знакомы нам в качестве компонента, содержащегося в таких плодах как хурма, ягодах чернослива, шиповника, черники и др.

Классификация

Согласно классификации Г. Проктера дубильные вещества в зависимости от природы продуктов их разложения при температуре (без доступа воздуха) разделяются на две основные группы: пирогалловые (дают при разложении пирогаллол) и пирокатехиновые (образуется пирокатехин).

Наибольшее признание получила классификация Г.Поварнина и К. Фрейденберга, основанная на химической природе ДВ. Согласно этой классификации, дубильные вещества делятся на 2 большие группы:

- 1) гидролизуемые
- 2) конденсированные.

Первая группа расщепляется в условиях кислотного или ферментативного гидролиза на простейшие составные части, в том числе галловую кислоту. Конденсированные дубильные вещества не распадаются под действием кислот, образуя при этом продукты конденсации - флобафены. Конденсированные дубильные вещества образуются в результате ферментативной окислительной конденсации катехинов, лейкоантоцианидинов.

К гидролизуемой группе дубильных веществ относят соединения, которые при обработке разбавленными кислотами (в условиях кислотного гидролиза) распадаются с образованием более простых соединений фенольной.

Гидролизуемые ДВ - это смеси сложных эфиров фенолкарбоновых кислот с сахарами и несакаридами. Гидролизуемые ДВ можно разделить на группы: в зависимости от строения образующихся при полном гидролизе первичных фенольных соединений различают галловые и эллаговые гидролизуемые дубильные вещества. В обеих этих группах веществ нефенольным компонентом всегда выступает моносахарид. Обычно это глюкоза, но могут быть и другие моносахариды.

1. Галлотанины - эфиры галловой, дигалловой кислот и других ее полимеров с циклическими формами сахаров. ДВ этой группы содержатся и преобладают в корневищах и корнях кровохлебки, корневищах змеевика, бадана, соплодиях ольхи, коре дуба, листьях гаммелиса.

2. Эллаготанины - эфиры эллаговой и других кислот, имеющих с ней биогенетическое родство, с циклическими формами сахаров. Содержатся в коре плодов гранатника, коре эвкалипта, кожуре грецкого ореха, листьях и соцветиях кипрея.

Эллаговые дубильные вещества, или эллаготанины, при гидролизе отщепляют в качестве фенольных остатков эллаговую кислоту, которая образуется в растениях из гексагидроксидифеновой кислоты - продукта окисления галловой кислоты. В качестве сахаристого остатка в эллаговых дубильных веществах также чаще всего встречается глюкоза.

3. Несахаридные эфиры фенолкарбоновых кислот - эфиры галловой кислоты с хинной, хлорогеновой, кофейной, оксикоричной кислотами и с флаванами. Пример: теогаллин, обнаруженный в листьях чая китайского, представляющий собой эфир хинной и галловой кислот (3 - О - галлоилхинная кислота).

2. Конденсированные дубильные вещества не обладают характером эфиров, полимерная цепь этих соединений образована посредством углеродных связей (-С-С-), что обуславливает их устойчивость к воздействию кислот, щелочей и ферментов. При действии минеральных кислот они не расщепляются, а увеличивают молекулярную массу с образованием продуктов окислительной конденсации - флобафенов, или красителей, красно-коричневого цвета.

Конденсированные дубильные вещества — это продукты конденсации катехинов (флаван-3-олов), лейкоантоцианидинов (флаван-3,4-диолов), реже гидроксистильбенов (фенилэтиленов).

Конденсированные дубильные вещества содержатся и преобладают в коре калины, корневищах лапчатки, плодах черники, плодах черемухи, траве зверобоя, листьях чая.

Чаще всего в растениях встречается смесь гидролизующихся и конденсированных таннидов с преобладанием той или иной группы, поэтому классифицировать лекарственное растительное сырье по типу дубильных веществ достаточно сложно. В некоторых видах сырья отмечено почти одинаковое содержание обеих групп дубильных веществ (например, корневища женьшеня).

ЛРС содержащие дубильные вещества

Богаты дубильными веществами представители семейств сосновых (Pinaceae), ивовых (Salicaceae), гречишных (Polygonaceae), вересковых (Ericaceae), буковых (Fagaceae), сумаховых (Anacardiaceae).

Семейства розоцветных (Rosaceae), бобовых (Fabaceae), миртовых (Myrtaceae) насчитывают многочисленные роды и виды, в которых содержание дубильных веществ доходит до 20-30% и более.

Больше всего (до 50-70%) дубильных веществ найдено в патологических образованиях - галлах.

Галлы (*Gallae*) - патологические наросты, вызываемые вредителями: насекомыми-орехотворками, вирусами, грибами, червями, бактериями при поражении ими листьев, стеблей либо других частей растения. При поражении целых органов, например, листовых почек, образуются тератоморфы (уродства). Вследствие извращения обмена веществ под влиянием развития насекомого, наросты обогащаются таннидами. Используются галлы турецкие и китайские.

Галлы содержат 50-60% галлотаннина.

Фармакопейные представители

Дуб черешчатый (обыкновенный) - *Quercus robur* L.

Дуб скальный - *Quercus petraea* Uebl.

Сем. буковые - Fagaceae

Как сырье используют кору дуба. Она содержит 10-20% дубильных веществ - производных галловой и эллаговой кислот.

Отвары коры дуба применяют при острых и хронических воспалительных заболеваниях полости рта.

Лапчатка прямостоячая - *Potentilla erecta* (L.)

Сем. розоцветные - Rosaceae

В качестве сырья используют корневища, они содержат 15-30% дубильных веществ с преобладанием конденсированных таннидов.

Отвары лапчатки назначают внутрь при энтеритах, язвенных колитах с кровотечением из кишечника.

Кровохлебка лекарственная - *Sanguisorba officinalis* L.

Сем. розоцветные - Rosaceae

В качестве сырья используют корневища и корни кровохлебки, они содержат

дубильные вещества с преобладанием гидролизуемых веществ пирогалловой группы (танинов).

Применяется как вяжущее средство при желудочно-кишечных заболеваниях, как кровоостанавливающее при внутренних кровотечениях, для полоскания горла.

Бадан толстолистный - *Bergenia crassifolia*

Сем. камнеломковые - Saxifragaceae

В качестве сырья используют корневища (содержат до 28% дубильных веществ группы пирогаллола). Отвар из корневищ бадана применяют в гинекологической практике при обильных менструациях, при геморрагических метрпатиях.

Ольха серая - *Alnus incana* (L.) Moench.

Ольха черная (клейкая) - *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn

Сем. березовые - Betulaceae

Как сырье используют соплодия (дубильные вещества, в состав которых входят танин около 2,5% и галловая кислота до 4%). Настой соплодий (шишек) и отвар коры ольхи назначают при острых и хронических энтероколитах.

Черемуха обыкновенная - *Rodus avium* Mill.

Сем. розоцветные - Rosaceae

Используют плоды (дубильные вещества до 15%). Применяют в качестве вяжущего средства при энтеритах.

Черника обыкновенная - *Vaccinium myrtillus* L.

Сем. вересковые - *Ericaceae*

Применяются плоды черники (до 12% дубильных веществ пирокатехиновой группы). Плоды черники обладают вяжущими, противомикробными свойствами.

Горец змеинный - *Polygonum bistorta* L.

Сем. гречишные - *Polygonaceae*

Используют корневища змеевика (дубильные вещества 15-25%). Применяется как хорошее вяжущее средство в виде отвара или настойки внутрь при язве желудка, кровотечениях.

Не фармакопейные представители

Галлы турецкие - *Gallae turcicae* - высушенные галлы дуба заражённого - *Quercus infectoria*, содержат 50—60 % галлотанина.

Галлы китайские - *Gallae chinensis*, высушенные галлы сумаха полукрылатого - *Rhus semialata*, — образуются при поражении веточек и листовых черешков кустарника тлём. Содержат 50—80 % галлотанина.

Галлы используют для получения танина, применяемого в медицинских целях.

Методы определения дубильных веществ

Для того, чтобы определить какой метод анализа подойдет нужно знать свойства определяемых веществ, а, чтобы подобрать оптимальный метод анализа нужно проанализировать все доступные методы по следующим параметрам [5]:

- 1) Простота выполнения
- 2) Скорость выполнения
- 3) Количество затрачиваемых реактивов.

Для того, чтобы правильно подобрать метод следует учитывать физико-химические свойства дубильных веществ. Как известно дубильные вещества хорошо растворимы в горячей воде и водно-спиртовой смеси, исходя из этого выбор должен остановиться на метод, с помощью которого можно проводить анализы водных и водно-спиртовых извлечений [7].

Фармакопейные методы

Титриметрический метод

Согласно ГФ 14-го издания титрование водного извлечения из сырья проводят 0,02 М раствором перманганата калия [3].

Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на танин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где

V — объем калия перманганата раствора 0,02 М, израсходованного на титрование водного извлечения, мл;

V_1 — объем калия перманганата раствора 0,02 М, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

0,004157 — количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл калия перманганата раствора 0,02 М в пересчете на танин, г;

a — масса сырья или лекарственного растительного препарата, г;

W — влажность лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, %;

250 — общий объем водного извлечения, мл;

25 — объем водного извлечения, взятого для титрования, мл.

Но данный метод не является специфичным, так как калия перманганат является сильным окислителем и окисляет другие соединения в извлечении. В

связи с этим результаты получаются завышенными. Этот метод довольно прост и не требует больших финансовых затрат. Он не считается не точным, потому что все нормы, указанные в фармакопее, были установлены при помощи этого метода [4].

Спектрофотометрический метод

Согласно ГФ 14 [3], проводят спектрофотометрию водного извлечения с фосфорномолибденово-вольфрамовым реактивом используя в качестве раствора сравнения воду.

Параллельно проводят определение суммы дубильных веществ, не адсорбируемых кожным порошком. К водному извлечению прибавляют кожный порошок, фосфорномолибденово-вольфрамовым реактив и затем проводят спектрофотометрию используя в качестве раствора сравнения воду.

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного раствора.

Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на пирогаллол в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{62,5 \cdot (A_1 - A_2) \cdot a_d \cdot 100}{A_3 \cdot a \cdot (100 - W)}$$

Где:

A_1 — оптическая плотность испытуемого раствора при определении суммы дубильных веществ;

A_2 — оптическая плотность испытуемого раствора при определении суммы дубильных веществ, не адсорбируемых кожным порошком, в пересчете на пирогаллол;

A_3 — оптическая плотность стандартного раствора;

a — навеска лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, г;

a_0 — навеска СО пирогаллола, г;

W — влажность лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, %.

Метод спектрофотометрии с осаждением дубильных веществ на коже является очень специфичным по отношению к этим веществам [4], так как он основан на взаимодействии дубильных веществ с белками кожи. Этот метод сложнее предыдущего и более затратен в плане реактивов, требуется сложное оборудование. Но все же более специфичен.

Титрование раствором желатина

Водные извлечения из сырья титруют 1 % раствором желатина. Титр устанавливают по чистому танину [1]. Точку эквивалентности устанавливают путем отбора наименьшего объема титранта, вызывающего полное осаждение ДВ.

Данный метод, так же, как и предыдущий, основан на осаждении дубильных веществ белками. Метод является специфическим, достаточно простым и не дорогим, но довольно долгим [1].

Фотоэлектрокалориметрический метод

К водному извлечению прибавляют один из следующих реактивов: соли железа (III), фосфорно-вольфрамовую кислоту, реактив Фолина-Дениса для получения окрашенного раствора, затем измеряют оптическую плотность на фотокалориметре. Процентное содержание определяют по калибровочному графику.

Метод требует специального оборудования и довольно трудоёмкий и за счёт этого уступает другим методам.

Хроматографический метод

Проводят бумажную или тонкослойную хроматографию водного, либо спиртового извлечения. Обнаружение зон абсорбции веществ проводят в УФ свете.

Метод трудоёмкий и длительный, требует специального оборудования, но является эффективным и точным.

Потенциометрический метод

Водное извлечение титруют раствором перманганата калия, регистрируя результат с помощью рН-метра. Процентное содержание определяется с помощью градуировочного графика [8].

Этот метод имеет весомое преимущество в определении точки эквивалентности, так как она определяется с помощью прибора, а не визуально, как в индикаторных методах, этот способ позволяет более точно зафиксировать точку эквивалентности.

Кулонометрический метод

Суть метода заключается в том, что исследуемое извлечение вступает в реакцию с гипоиодит-ионами, превращение которых происходит из йода в щелочной среде на платиновом электроде при постоянной силе тока. Конец титрования может регистрироваться различными методами: потенциометрически, спектрофотометрически, с помощью химических индикаторов [9].

Метод является сложным, так как требует поддержания определенной среды для протекания реакции, дополнительное оборудование для определения точки эквивалентности и само оборудование для кулонометрии. Кулонометрическое титрование является точным методом.

Экспресс методы

Экспресс методы основаны на получении окрашенных продуктов реакции на поверхности сорбентов, в качестве которых используется пенополиуретан [6].

В шприц помещают полоску подготовленного пенополиуретана, помещают в водное извлечение из сырья и вытягивают до конца полоски сорбента, полученный аналитический патрон сравнивают со стандартной цветовой шкалой.

В основе сорбционно-цветометрического определения находится сорбция дубильных веществ пенополиуретаном, импрегнированным BeCl_3 , получение на его поверхности окрашенного в черно-зелёный цвет продуктов реакции и определение их в матрице сорбента.

Данный метод прост, но имеют большую погрешность и требует наличие специального сорбента, что увеличивает его стоимость.

Выводы

В ходе курсовой работы были проанализированы наиболее часто используемые методы анализа дубильных веществ. Среди этих методов были как фармакопейные спектрофотометрический и титриметрический (с калия перманганатом), так и не фармакопейные потенциометрический, кулонометрический, хроматографический, фотоколориметрический, цветные экспресс-методы. После рассмотрения данных методов сделаны выводы о их преимуществах и недостатках, благодаря чему можно легко определить наиболее подходящий метод для анализа сырья содержащего дубильные вещества, исходя из имеющегося оборудования, времени и профессиональных навыков аналитика.

Список литературы

1. Васильева А.П., Мартинова Д.М. МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ // Современная медицина: актуальные вопросы: сб. ст. по матер. XIV междунар. науч.-практ. конф. – Новосибирск: СибАК, 2013.
2. Государственная фармакопея РФ 13-е издание, 2015.
3. Государственная фармакопея РФ 14-е издание, 2018.
4. Антонова Н.П., Калинин А.М., Прохвятилова С.С., Шефер Е.П., Матвеевкова Т.Е. Оценка эквивалентности методов определения дубильных веществ, используемых для анализа лекарственного растительного сырья. //Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2015; (1): 11—15.
5. Гринько Е.Н./ ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ// Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». №2 2010
6. Калинкина С. П., Казакова А. А., Суханов П. Т., Ильин А. Н. Визуальные и цветометрические экспресс-способы суммарного определения дубильных веществ в растительном сырье // Вестник ВГУИТ. 2016. № 2. С. 223-229.
7. Гринько Е.Н. Требования Российской и Европейской фармакопей к методикам определения содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье. Фармация, 2010; 5: 49–53.
8. Рябинина Е.И., Зотова Е.Е., Пономарева Н.И. Потенциометрическое определение дубильных веществ в лекарственном растительном сырье. Фармация, 2012; 8–10.

9. Абдуллина С.Г., Агапова Н.М., Зиятдинова Г.К. и др. Кулонометрическое определение дубильных веществ в лекарственном растительном сырье. Фармация, 2010; 4: 13-15.
10. Рябинина Е.И. Сравнение химико-аналитических методов определения танинов и антиоксидантной активности растительного сырья // Аналитика и контроль. — 2011. — Т. 15, № 2. — С. 202—204.
11. Патент RU2439568C1, МПК G01N33/52 A61K36/00. Способ определения дубильных веществ в растительном сырье/ Самылина И.А., Абоянц Р. К., Гринько Е. Н.-(РФ)-Опубликован 2012-01-10.
12. Иванов В.В., Денисенко О.Н. Количественное определение дубильных веществ в траве горца сахалинского, интродуцированного в условиях кавказских минеральных вод, различными аналитическими методами // Современные проблемы науки и образования. -2014. - № 6. - С. 45-50.
13. Алехина Е.А., Ефремов А.Н., Емельянова О.А. Растения семейства Hydrocharitaceae - новый источник дубильных веществ? // Химия растительного сырья. 2018. №3. С. 179-184.
14. Мухаметгалиев Н.Р. Сравнительный анализ содержания дубильных веществ в корневищах кровохлебки лекарственной// Ученые записки казанского университета, том 157//2015 год.