



Количественное определение дубильных веществ методами титриметрии и спектрофотометрии в сырье некоторых представителей рода *Rumex* трех сроков вегетации

А. М. Полуянов^{1,2✉}, А. Е. Савельева¹, А.-Д. Койнова², А. Г. Полухина²,
Ф. И. Гаджиева³, А. Ю. Соколова¹, А. М. Анцышкина², Н. В. Бобкова^{2,4}

¹ Общество с ограниченной ответственностью «Сайнтифик Комплайнс». 117638, Россия, г. Москва, Симферопольский бульвар, д. 8., помещ. 1/2

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (НИЯУ МИФИ). 115409, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 31

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова» (МГУ имени М. В. Ломоносова). 119192, Россия, г. Москва, Ломоносовский пр-т, д. 27, корп. 1

✉ Контактное лицо: Полуянов Андрей Михайлович. E-mail: a.poluyanov@scientific-compliance.ru

ORCID: А. М. Полуянов – <https://orcid.org/0000-0002-9960-6699>;

А. Е. Савельева – <https://orcid.org/0009-0004-9691-9560>;

А.-Д. Койнова – <https://orcid.org/0009-0003-8969-8854>;

А. Г. Полухина – <https://orcid.org/0009-0005-5651-4996>;

Ф. И. Гаджиева – <https://orcid.org/0009-0008-5019-7602>;

А. Ю. Соколова – <https://orcid.org/0000-0002-7500-5880>;

А. М. Анцышкина – <https://orcid.org/0000-0003-2129-9585>;

Н. В. Бобкова – <https://orcid.org/0000-0003-1591-4019>.

Статья поступила: 20.09.2024

Статья принята в печать: 02.11.2024

Статья опубликована: 02.11.2024

Резюме

Введение. Изучение химического состава лекарственного растительного сырья и сравнительный анализ динамики накопления биологически активных веществ в родственных лекарственных растениях необходимы для создания высокоэффективных и безопасных лекарственных средств. Сходным с официальным представителем рода *Rumex* (далее *R.*) – *R. confertus* – метаболомом обладают широко распространенные в России виды: шавель курчавый, шавель туполистный, шавель водный, что обуславливает перспективность изучения данных видов. Научный и практический интерес представляет изучение обладающей антибактериальной активностью группы БАВ – дубильных веществ на различных фенологических стадиях развития растения.

Цель. Количественное определение дубильных веществ методами перманганатометрии и спектрофотометрии в подземных органах шавеля конского, щ. курчавого, щ. водного, щ. туполистного, заготовленных в различные фазы вегетации: отрастания, цветения и отмирания надземной части.

Материалы и методы. Анализировались водные извлечения из подземных органов изучаемых видов шавеля. Извлечения и полученные в ходе исследования растворы анализировались с помощью методов перманганатометрии, спектрофотометрии и ВЭЖХ. Соединения из группы дубильных веществ идентифицировали по длине волны максимума поглощения.

Результаты и обсуждение. Проведена оценка количественного содержания дубильных веществ методами перманганатометрии, спектрофотометрии и ВЭЖХ.

Заключение. В извлечениях из подземных органов щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного, щ. водного были обнаружены и количественно определены дубильные вещества, проанализирована зависимость между их количественным содержанием и фазой вегетации.

Ключевые слова: дубильные вещества, *Rumex confertus*, *Rumex crispus*, *Rumex obtusifolius*, *Rumex aquaticus*

© Полуянов А. М., Савельева А. Е., Койнова А.-Д., Полухина А. Г., Гаджиева Ф. И., Соколова А. Ю., Анцышкина А. М., Бобкова Н. В., 2024

© Poluyanov A. M., Savelyeva A. E., Koinova A.-D., Polukhina A. G., Gadzhieva F. I., Sokolova A. Yu., Antsyshkina A. M., Bobkova N. V., 2024

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. А. М. Полуянов и Н. В. Бобкова придумали и разработали эксперимент. А. М. Полуянов, А.-Д. Койнова, А. Ю. Соколова, А. Е. Савельева, А. Г. Полухина и Ф. И. Гаджиева провели исследования методами перманганатометрии, спектрофотометрии и ВЭЖХ-УФ. А. М. Полуянов, А.-Д. Койнова, А. Ю. Соколова и А. М. Анцышкину участвовали в обработке данных. А. М. Полуянов, А.-Д. Койнова, А. Ю. Соколова и А. Е. Савельева участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Для цитирования: Полуянов А. М., Савельева А. Е., Койнова А.-Д., Полухина А. Г., Гаджиева Ф. И., Соколова А. Ю., Анцышкина А. М., Бобкова Н. В. Количественное определение дубильных веществ методами титриметрии и спектрофотометрии в сырье некоторых представителей рода *Rumex* трех сроков вегетации. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(4):148–160. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-4-1937>

Quantitative determination of tannins by titrimetry and spectrophotometry in raw materials of some representatives of the genus *Rumex* of three growing seasons

Andrey M. Poluyanov^{1,2}✉, Anna E. Savelyeva¹, Anna-Daniella Koinova²,
Alexandra G. Polukhina², Fidan I. Gadzhieva³, Anna Yu. Sokolova¹,
Alla M. Antsyshkina², Natalia V. Bobkova^{2,4}

¹ Limited Liability Company "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA"). 8, Simferopolsky bulvar, Moscow, 117246, Russia

² I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

³ National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute). 31, Kashirskoe shosse, Moscow, 115409, Russia

⁴ Lomonosov Moscow State University. 27/1, Lomonosovsky prospect, Moscow, 119192, Russia

✉ **Corresponding author:** Andrey M. Poluyanov. **E-mail:** a.poluyanov@scientific-compliance.ru

ORCID: Andrey M. Poluyanov – <https://orcid.org/0000-0002-9960-6699>;
Anna E. Savelyeva – <https://orcid.org/0009-0004-9691-9560>;
Anna-Daniella Koinova – <https://orcid.org/0009-0003-8969-8854>;
Alexandra G. Polukhina – <https://orcid.org/0009-0005-5651-4996>;
Fidan I. Gadzhieva – <https://orcid.org/0009-0008-5019-7602>;
Anna Yu. Sokolova – <https://orcid.org/0000-0002-7500-5880>;
Alla M. Antsyshkina – <https://orcid.org/0000-0003-2129-9585>;
Natalia V. Bobkova – <https://orcid.org/0000-0003-1591-4019>.

Received: 20.09.2024

Accepted: 02.11.2024

Published: 02.11.2024

Abstract

Introduction. Study of the chemical composition of medicinal plant raw materials and comparative analysis of the dynamics of accumulation of biologically active substances in related medicinal plants is necessary for the creation of highly effective and safe drugs. Similar metabolome to the officinal representative of the genus *Rumex* (hereinafter referred to as *R.*) – *R. confertus* – the metabolome of species widely distributed in Russia: *R. crispus*, *R. obtusifolius*, *R. aquaticus*, which determines the perspectivity of studying these species. Scientific and practical interest is represented by the study of the group of biologically active substances possessing antibacterial activity – tannins at different phenological stages of plant development.

Aim. Quantitative determination of tannins by permanganatometry and spectrophotometry methods in underground organs of *R. confertus*, *R. crispus*, *R. obtusifolius*, *R. aquaticus*, harvested in different phases of vegetation: regrowth, flowering and withering periods.

Materials and methods. Aqueous extracts from underground organs of the studied *Rumex* species were analyzed. Extractions and solutions obtained during the study were analyzed by permanganatometry, spectrophotometry and HPLC. The compounds from the group of tannins were identified by the wavelength of absorption maximum.

Results and discussion. The quantitative content of tannins was evaluated by permanganatometry, spectrophotometry and HPLC.

Conclusion. Tannins were detected and quantified in extracts from underground organs of *R. confertus*, *R. crispus*, *R. obtusifolius*, *R. aquaticus* and the dependence between their quantitative content and vegetation phase was analyzed.

Keywords: tannins, *Rumex confertus*, *Rumex crispus*, *Rumex obtusifolius*, *Rumex aquaticus*

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Andrey M. Poluyanov and Natalia V. Bobkova conceived and designed the experiment. Andrey M. Poluyanov, Anna-Daniella Koinova, Anna Y. Sokolova, Anna E. Savelyeva, Alexandra G. Polukhina, and Fidan I. Gadzhieva carried out the studies by permanganatometry, spectrophotometry, and HPLC-UV methods.

Andrey M. Poluyanov, Anna-Daniella Koinova, Anna Y. Sokolova, and Alla M. Antsyshkina participated in data processing. Andrey M. Poluyanov, Anna-Daniella Koinova, Anna Y. Sokolova, and Anna E. Savelyeva participated in writing the text of the article. All authors participated in the discussion of the results.

For citation: Poluyanov A. M., Savelyeva A. E., Koinova A.-D., Polukhina A. G., Gadzhieva F. I., Sokolova A. Yu., Antsyshkina A. M., Bobkova N. V. Quantitative determination of tannins by titrimetry and spectrophotometry in raw materials of some representatives of the genus *Rumex* of three growing seasons. *Drug development & registration*. 2024;13(4):148–160. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-4-1937>

ВВЕДЕНИЕ

Представители рода *Rumex* семейства Polygonaceae, широко распространенные по всему миру, содержат ряд биологически активных веществ (БАВ): хиноны, флавоноиды, дубильные вещества (ДВ), терпены, терпеновые алкалоиды, лигнаны, каротиноиды, аскорбиновую кислоту, антраценпроизводные [1]. Согласно метаисследованиям, сырье представителей рода *Rumex* может применяться в комплексной терапии при легких формах диабета, обстипации, различных инфекциях, диарее, желтухах, как антигипертензивное средство и гепатопротектор [2–22].

Важной группой БАВ, содержащихся в сырье представителей данного рода, являются полифенольные соединения, обладающие антиоксидантной активностью и образующие хелатные комплексы с металлами [14]. К группе полифенольных соединений относятся, в частности, ДВ, находящие применение в медицине благодаря своим антибактериальным, противогельминтным и противовоспалительным свойствам [4]. Количественное определение ДВ проводилось в отношении таких представителей рода *Rumex*, как *R. acetosa*, *R. acetosella*, *R. crispus*, *R. confertus*, *R. maritimus*, *R. obtusifolius*, *R. acetosella*, *R. japonicus*, *R. dentatus* [1, 5, 6].

Количественное содержание ДВ в корнях щавеля конского в различных литературных источниках составляет от 5 до 22,65 % [8, 9]. Согласно фармакопее ДВ определяются двумя методами: прямой перманганатометрии и спектрофотометрии с кожным порошком¹. В литературных источниках приведены более чувствительные и селективные инструментальные методы анализа: высокоэффективная жидкостная хроматография и капиллярный электрофорез [15, 16].

¹ Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания, ОФС 1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Доступно по: <https://docs.ruslml.ru/feml/pharma/v14/vol2/551/> Ссылка активна на 02.08.2023

Несмотря на преимущества, они имеют и ряд недостатков, к основным из которых можно отнести невысокую воспроизводимость методик, связанную с низкой стабильностью ДВ.

Большой интерес представляет изучение некоторых видов рода щавель, широко произрастающих на территории России: щ. курчавого (*R. crispus*), щ. туполистного (*R. obtusifolius*) и щ. водного (*R. aquaticus*). Содержание ДВ в них, согласно литературным источникам, представлено в таблице 1.

Таблица 1. Содержание дубильных веществ в подземных органах, листьях и плодах выбранных видов щавелей согласно литературным источникам

Table 1. Content of tannins in the underground organs, leaves and fruits of selected *Rumex* species according to literary sources

Виды щавеля <i>Rumex species</i>	Содержание дубильных веществ в подземных органах и надземных органах, % Tannin content in underground and aboveground organs, %	
	Подземные органы Underground organs	Надземная часть Aerial part
Щ. конский <i>R. confertus</i>	От 19,1 до 22,65 [8, 18]	От 6,55 до 10,36 [8, 18]
Щ. курчавый <i>R. crispus</i>	От 10,0 до 19,36 [8, 21]	От 1,4 до 4,88 [6, 8, 19]
Щ. туполистный <i>R. obtusifolius</i>	От 12,98 до 15,5 [8, 21]	От 1,7 до 6,00 [6, 8]
Щ. водный <i>R. aquaticus</i>	15,37 [10]	Нет данных No data available

В литературе отмечается несоответствие периода максимального содержания различных групп БАВ в подземных органах общепринятому сроку их

заготовки [11, 12]. О щ. водном в целом очень мало информации в литературных источниках. В связи с этим особенно важно провести сравнительный анализ динамики накопления дубильных веществ в некоторых видах щавеля в зависимости от стадии вегетации.

Целью данного исследования являлось количественное определение дубильных веществ различными методами в подземных органах *R. confertus*, *R. crispus*, *R. obtusifolius*, *R. aquaticus*, заготовленных в различные фазы вегетации: отрастания, цветения и отмирания надземной части.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В процессе исследования были использованы следующие реактивы: железа (II) сульфат 7-водный (ч.д.а., АО «ЛенРеактив», Россия), калий-натрий виннокислый 4-водный (ч.д.а., АО «ЛенРеактив», Россия), индигокармин (ч.д.а., АО «ЛенРеактив», Россия), серная кислота (ос.ч., ООО «СигмаТек», Россия); калий марганцовокислый, стандарт-титр (ООО «ЭКРОСХИМ», Россия), свинец уксуснокислый (II) 3-водный (ч.д.а., АО «ЛенРеактив», Россия), натрий фосфорнокислый двузамещенный, 12-водный (ч., ООО «АО РЕАХИМ», Россия), натрия гидроксид (ч.д.а., ООО «Компонент-Реактив», Россия), ортофосфорная кислота концентрированная (for HPLC, Scharlau, Испания).

Стандартные образцы: эпигаллокатехина галлат (Fluka, Германия), галловая кислота (Sigma-Aldrich), эпикатехин (Sigma-Aldrich, Германия), катехин (Sigma-Aldrich, Германия).

В качестве оборудования для выполнения эксперимента были использованы: спектрофотометр СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия), водяная баня STEGLER WB-4 (STEGLER, Китай), дозаторы переменного объема от 100–1000 мкл, от 1000 до 5000 мкл (Sartorius AG, Германия), весы аналитические R200D (Sartorius AG, Германия).

Количественную оценку осуществляли на высокоэффективном жидкостном хроматографе «Хроматэк-Кристалл ВЭЖХ 2014» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), оснащенном ультрафиолетовым детектором; хроматографическая колонка Grace HPLC Column Platinum C18-EPS, 250 × 4,6 мм, 5 мкм (Grace, США).

Обнаружение осуществлялось при длине волны $\lambda = 275 \pm 2$ нм. Подвижная фаза содержала водный раствор муравьиной кислоты с pH = 2,5 (элюент А); ацетонитрил (элюент В) со скоростью потока: 1 мл/мин. Использованный градиент подвижной фазы показан на рисунке 1 [22].

В качестве объектов исследования выступало лекарственное растительное сырье растений семейства гречишных (Polygonaceae): официальное лекарственное растительное сырье – щавеля конского корня (*Rumex confertus* Willd., radices) и нефармакопейное

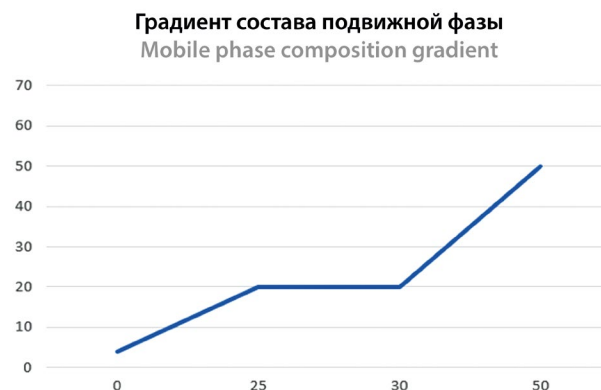


Рисунок 1. Градиент подвижной фазы

Figure 1. Mobile phase gradient

сырье растений, лекарственные свойства которых описаны в литературных источниках, – подземные органы щавеля водного (*Rumex aquaticus* L.), щавеля курчавого (*Rumex crispus* L.), щавеля туполистного (*Rumex obtusifolius* L.), заготовленные в период весеннего отрастания (апрель-май 2022 года, «отрастание») и в период увядания надземной части (октябрь 2021 года, «увядание»). Также сырье было заготовлено в период цветения (июнь-июль 2021 года, «цветение»).

Местом заготовки щ. конского, щ. водного, щ. туполистного было поселение Роговское, Москва, Россия (координаты: 55.245626, 37.009576). Щ. курчавый был заготовлен в поселении Краснопахорское, Москва, Россия (координаты: 55.384859, 37.225441).

Собранные подземные органы были промыты от земли проточной холодной водой. Перед сушкой наиболее массивные подземные органы были разделены вдоль на две части. Сушка производилась при комнатной температуре в хорошо проветриваемом помещении, без доступа солнечных лучей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Перманганатометрия

Водные извлечения из сырья были получены в соответствии с методикой, представленной в нормативной документации¹. Для максимального извлечения из сырья дубильных веществ проводилась экстракция кипящей водой. Данный способ экстракции позволяет экстрагировать преимущественно гидрофильные вещества фенольной структуры.

¹ Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания, ОФС 1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Доступно по: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/551/> Ссылка активна на 02.08.2023

С целью оценки общего содержания полифенолов была проведена перманганатометрия по методике из нормативной документации. Полученные данные отображены в таблице 2 и на рисунке 2.

Несмотря на простоту и экспрессность метода, ошибка определения является высокой из-за способности перманганата калия окислять другие группы БАВ. Анализ полученных значений содержания показал: самое низкое значение дубильных веществ обнаружено у щ. туполистного в фазе отмирания над-

земной части; наибольшее – у щ. конского в фазе цветения. У всех объектов наименьший процент содержания был в фазе отмирания, за исключением щ. курчавого.

Спектрофотометрия

Определение методом спектрофотометрии проводилось тремя различными способами: была измерена оптическая плотность нативных водных из-

Таблица 2. Оценка количественного содержания дубильных веществ в подземных органах методом перманганатометрии

Table 2. Content of tannins in the underground organs, estimated using permanganometry

Вид щавеля <i>Rumex</i> sp. Фаза вегетации <i>Rumex</i> sp. Vegetative phase	Содержание дубильных веществ, % Content of tannins, %		
	Отрастание Regrowth	Цветение Flowering	Отмирание Senescence
Щ. конский <i>Rumex confertus</i> <i>Rumex confertus</i>	11,91 ± 0,43	12,07 ± 0,12	5,97 ± 0,21
Щ. курчавый <i>R. crispus</i> <i>R. crispus</i>	4,14 ± 0,41	5,73 ± 0,48	5,02 ± 0,3
Щ. туполистный <i>R. obtusifolius</i> <i>R. obtusifolius</i>	5,45 ± 0,2	3,53 ± 0,21	2,57 ± 0,0
Щ. водный <i>R. aquaticus</i> <i>R. obtusifolius</i>	8,83 ± 0,24	8,81 ± 0,43	4,95 ± 0,16



Рисунок 2. Количественное содержание дубильных веществ в подземных органах в трех фазах вегетации, определенное методом перманганатометрии, %

Figure 2. Quantitative content of tannins in the underground organs during three vegetative phases, %

влечений из подземных органов изучаемых видов щавеля трех различных вегетаций; извлечений с добавлением фосфатного буфера и железо-тарtratного реактива (ЖТР).

Измерение нативных водных извлечений проводилось при длине волны 282 нм [3]. Данный максимум поглощения относится к веществам преимущественно фенольного характера и наблюдается у всех изучаемых объектов. Полученные спектры изображены на рисунке 3.

Определение оптической плотности при длине волны 282 нм у нативных извлечений имеет существенный недостаток, связанный с низким уровнем селективности методики. Несмотря на это, полученные предварительные данные, приведенные в таблице 3, можно использовать с целью скрининга содержания изучаемой группы БАВ. Наибольшее полученное значение составило $4,56 \pm 0,018$ % у щ. конского в фазе цветения, наименьшее – у щ. туполистного – $0,77 \pm 0,006$ %. У всех видов отмечена тенденция к снижению содержания от фазы отрастания к фазе отмирания, исключением является щ. курчавый, у которого меньшее значение обнаружено в фазе цветения (рисунок 4).

С целью увеличения селективности методики с водными извлечениями было решено провести реакцию, которая обеспечит bathochromный сдвиг максимума поглощения анализируемых веществ. Методика представлена на рисунке 5. Реакция, происходящая между ДВ и ЖТР, представлена на рисунке 6.

В качестве раствора сравнения использовались те же извлечения, очищенные от дубильных веществ с помощью ацетата свинца, образующего комплексы с дубильными веществами, выпадающими в осадок (рисунок 7).

Измерение извлечений с ЖТР проводилось при селективной длине волны 545 нм, что позволило отделить дубильные вещества от других фенольных соединений. Данный факт можно подтвердить сравнением количественных результатов для нативных соединений при длине волны 282 нм и после реакции тех же экстрактов с ЖТР (рисунок 8).

Значения количественного содержания дубильных веществ после реакции с ЖТР характерно ниже, чем у нативных извлечений (таблица 4). У щ. туполистного отмечается полное отсутствие дубильных веществ в фазах отрастания и отмирания.

В сравнении с нативными извлечениями в фазе отрастания можно отметить в целом большее содержание фенольных соединений, но дубильных ве-

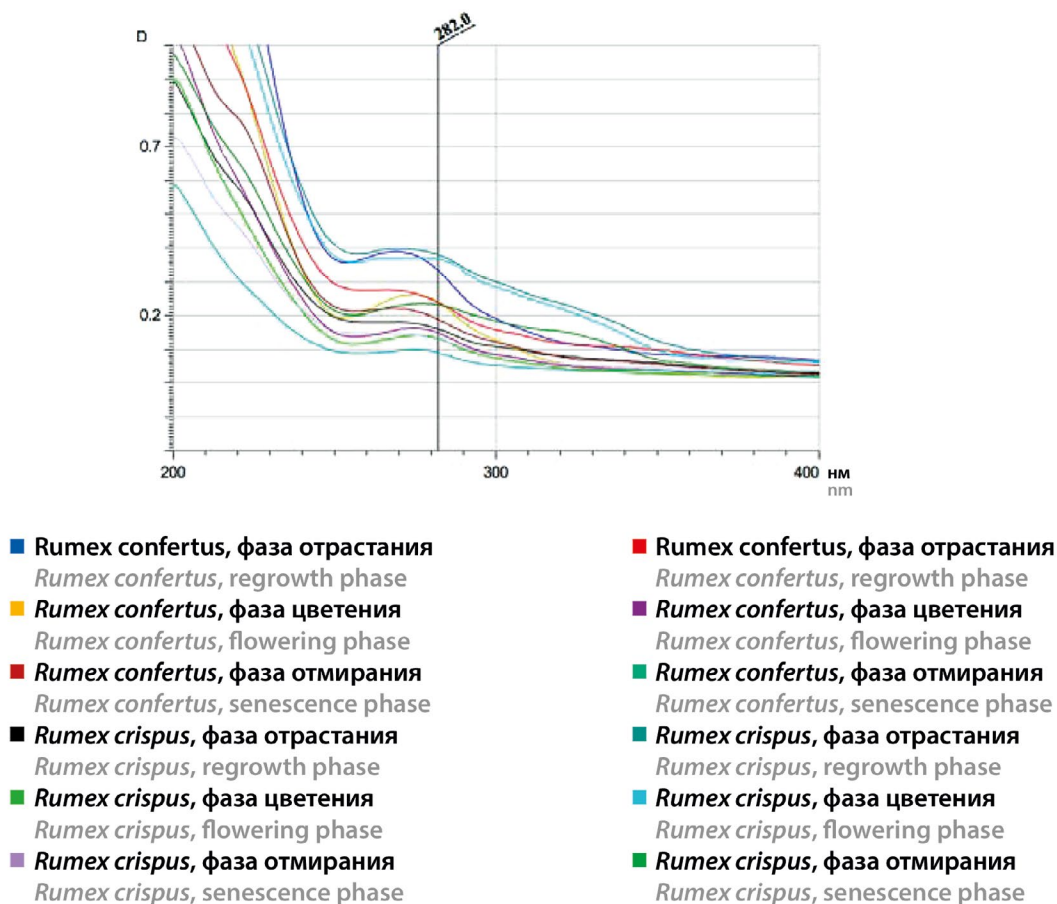


Рисунок 3. Спектры нативных извлечений

Figure 3. Spectra of original extracts

Таблица 3. Оценка содержания дубильных веществ в нативных извлечениях методом спектрофотометрии

Table 3. Content of tannins in the original extracts, estimated using spectrophotometry

Вид щавеля <i>Rumex</i> sp. Фаза вегетации Vegetative phase <i>Rumex</i> sp.	Содержание дубильных веществ в нативных извлечениях, % Content of tannins in the original extracts, %		
	Отрастание Regrowth	Цветение Flowering	Отмирание Senescence
Щ. конский <i>Rumex confertus</i> <i>Rumex confertus</i>	2,88 ± 0,015	4,56 ± 0,018	1,61 ± 0,008
Щ. курчавый <i>Rumex crispus</i> <i>R. crispus</i>	1,39 ± 0,009	1,14 ± 0,007	1,25 ± 0,005
Щ. туполистный <i>Rumex obtusifolius</i> <i>R. obtusifolius</i>	2,02 ± 0,004	1,13 ± 0,003	0,77 ± 0,006
Щ. водный <i>Rumex aquaticus</i> <i>R. obtusifolius</i>	3,29 ± 0,002	3,15 ± 0,005	1,98 ± 0,016

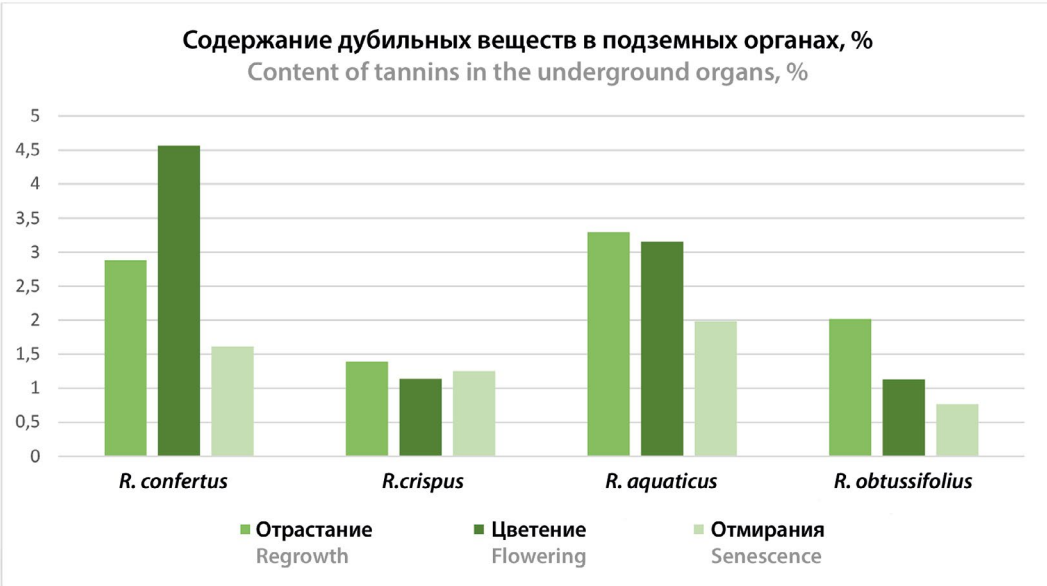


Рисунок 4. Накопление дубильных веществ в подземных органах в трех вегетативных фазах в нативных извлечениях

Figure 4. Accumulation of tannins in the underground organs during three vegetative phases of native extracts

ществ больше именно в фазе цветения. Сравнение содержания ДВ после реакции с ЖТР по фазам вегетации приведено на рисунке 9.

Высокоэффективная жидкостная хроматография

Хроматографическое определение было проведено в присутствии 4 стандартных образцов из группы дубильных веществ: галловой кислоты, катихина, эпикатехина и элгаллокатехин галлата, хроматограмма которых приведена на рисунке 10. Полученные хроматограммы приведены на рисунке 11.

Согласно полученным данным, в изучаемых объектах индивидуальные вещества обнаружены не были. Лишь у щ. конского в фазе отмирания надземной части было обнаружено 0,04 % эпикатехина.

В изучаемых объектах было подтверждено крайне низкое содержание анализируемых соединений, однако, исходя из литературных данных и результатов спектрофотометрии с ЖТР, можно предположить, что в видах рода *Rumex* преобладают именно гидролизуемые танины. Данная теория требует дополнительного исследования.

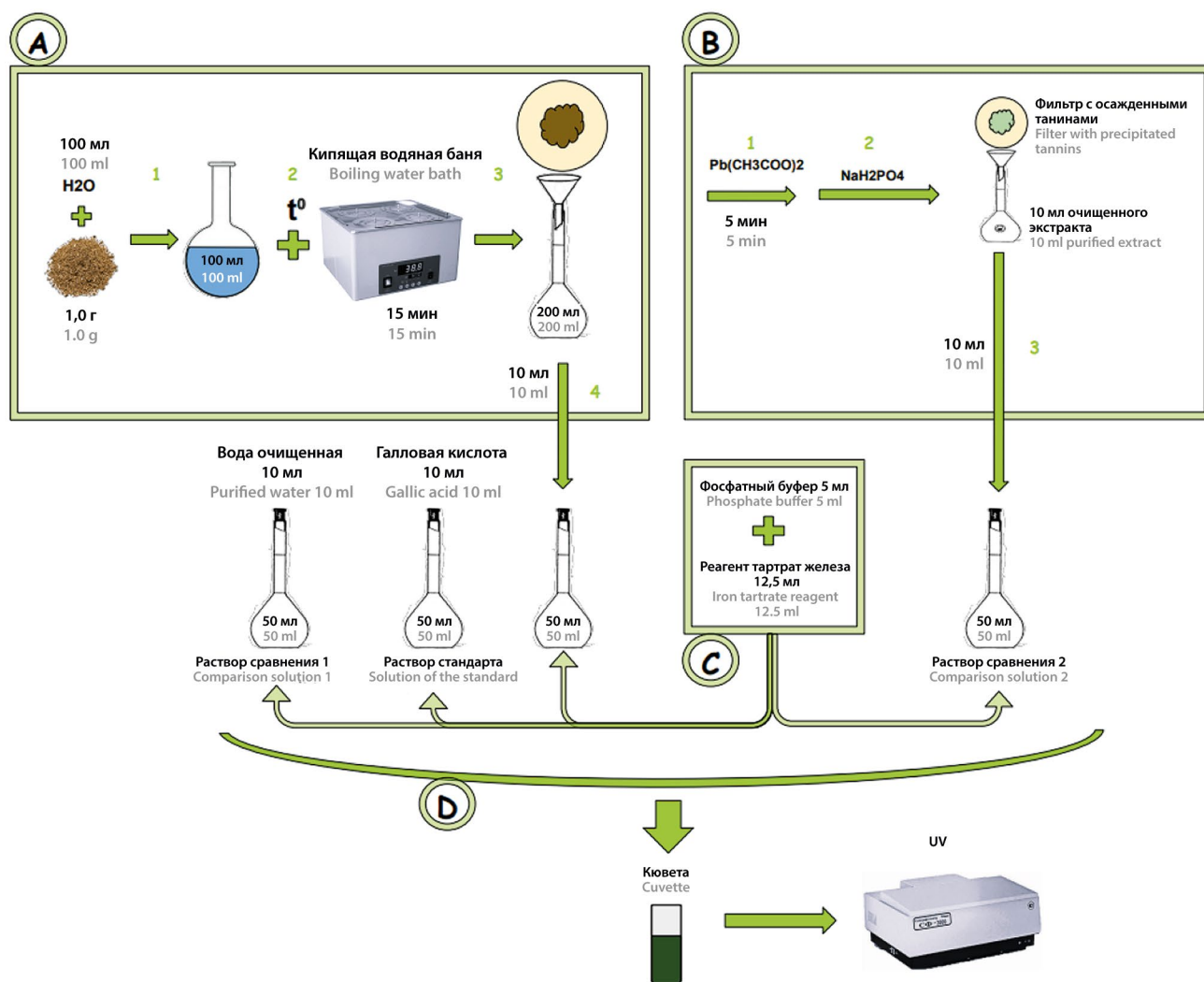


Рисунок 5. Схема пробоподготовки для спектрофотометрии с ЖТР.

А – получение извлечения:

1 – помещение в круглодонную колбу объемом 250 мл 1 г точной навески образца и 100 мл воды очищенной; 2 – нагрев на водяной бане в течение 15 минут; 3 – фильтрование извлечения в колбу объемом 200 мл и доведение до метки водой очищенной; 4 – отбор 10 мл извлечения для дальнейшей реакции с ЖТР.

В – получение очищенного от ДВ извлечения:

1 – добавление раствора ацетата свинца к 10 мл извлечения для осаждения ДВ; 2 – добавление дигидрофосфата натрия для освобождения раствора от солей свинца и отфильтровывание осадка; 3 – взятие 10 мл очищенного от ДВ извлечения для получения раствора сравнения № 2.

С – приготовление анализируемых растворов, стандартного образца галловой кислоты и двух растворов сравнения.

Д – спектрофотометрия полученных растворов

Figure 5. Sample preparation scheme for spectrophotometry with FTR

A – receiving extract:

1 – placing 1 g of an accurately weighed sample and 100 ml of purified water into a 250 ml round-bottom flask; 2 – heating in a water bath for 15 minutes; 3 – filtering the extract into a 200 ml flask and bringing it to the mark with purified water; 4 – selection of 10 ml of extract for further reaction with FTR.

B – obtaining extract purified from tannins:

1 – adding a solution of lead acetate to 10 ml of extract to precipitate the active substance; 2 – adding sodium dihydrogen phosphate to free the solution from lead salts and filtering out the precipitate; 3 – taking 10 ml of the extract purified from DV to obtain reference solution No. 2.

C – preparation of analyzed solutions, a standard sample of gallic acid and two reference solutions.

D – spectrophotometry of the resulting solutions

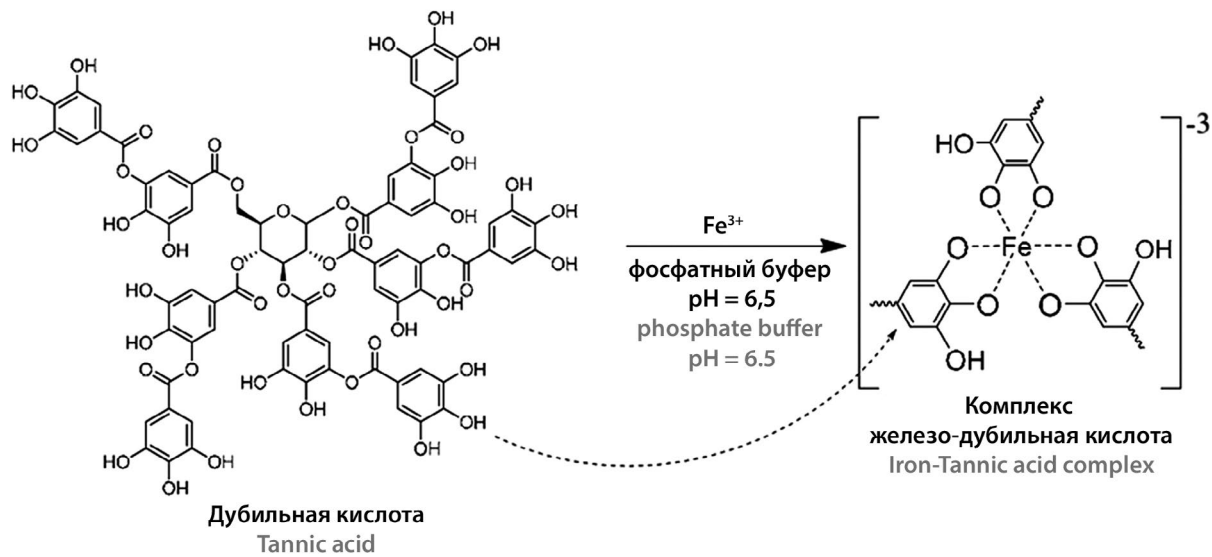


Рисунок 6. Реакция ЖТР с дубильными веществами
Figure 6. FTR reaction with tannins

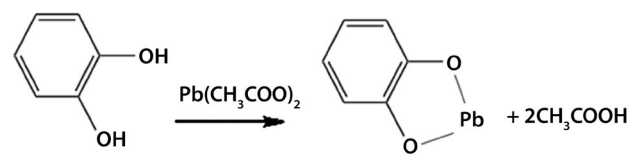


Рисунок 7. Схема реакции ДВ и раствора ацетата свинца
Figure 7. Tannins reaction with lead (II) acetate reagent

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках исследования щ. конского (*Rumex confertus* L.), щ. водного (*Rumex aquaticus* L.), щ. курчавого (*Rumex crispus* L.), щ. туполистного (*Rumex obtusifolius* L.) трех различных сроков вегетации были апробированы методики количественного определения ДВ. Определено количество и выявлены закономерности динамики накопления дубильных веществ в зависимости от фазы вегетации.

Таблица 4. Оценка содержания ДВ после реакции с ЖТР методом спектрофотометрии
Table 4. Content of tannins in the extracts after reaction with FTR, estimated using spectrophotometry

Вид щавеля <i>Rumex</i> sp. Фаза вегетации Vegetative phase <i>Rumex</i> sp.	Содержание дубильных веществ, % Content of tannins, %		
	Отрастание Regrowth	Цветение Flowering	Отмирание Senescence
Щ. конский <i>Rumex confertus</i> <i>Rumex confertus</i>	2,026 ± 0,012	4,321 ± 0,068	1,105 ± 0,005
Щ. курчавый <i>R. crispus</i> <i>R. crispus</i>	0,479 ± 0,004	1,171 ± 0,025	0,229 ± 0,001
Щ. туполистный <i>R. obtusifolius</i> <i>R. obtusifolius</i>	0	0,750 ± 0,003	0
Щ. водный <i>R. aquaticus</i> <i>R. obtusifolius</i>	1,588 ± 0,007	1,52 ± 0,015	0,290 ± 0,003

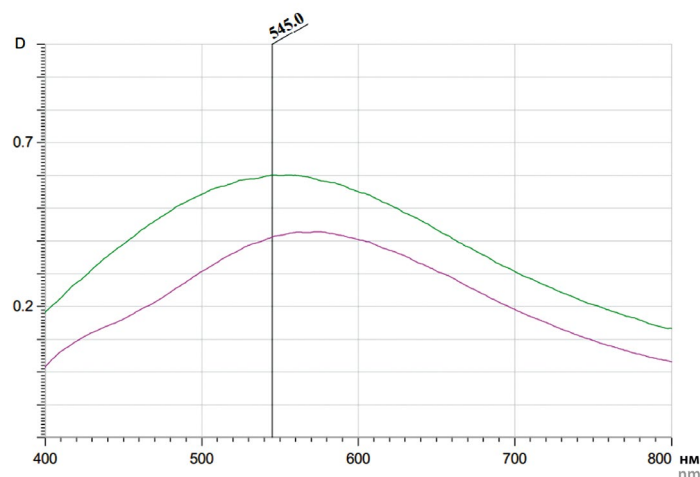


Рисунок 8. Спектры извлечений после реакции с ЖТР

Figure 8. Spectra of extracts after reaction with FTR

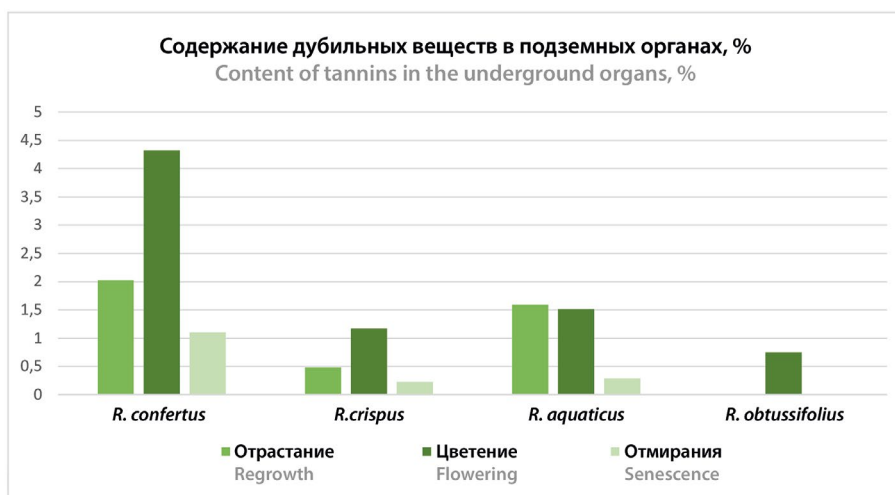


Рисунок 9. Накопление дубильных веществ в подземных органах в трех вегетативных фазах после реакции с ЖТР

Picture 9. Accumulation of tannins in the underground organs during three vegetative phases after reaction with FTR

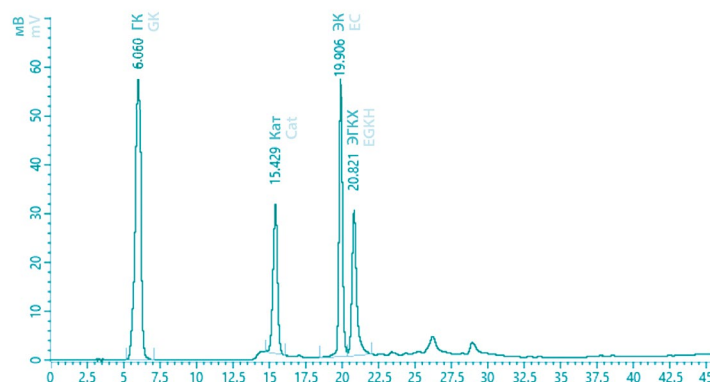


Рисунок 10. Хроматограмма смеси растворов стандартных образцов галловой кислоты, катехина, эпикатехина и эпигаллокатехин галлата

Figure 10. Chromatogram of a mixture of solutions of standard samples of gallic acid, catechin, epicatechin and epigallocatechin gallate

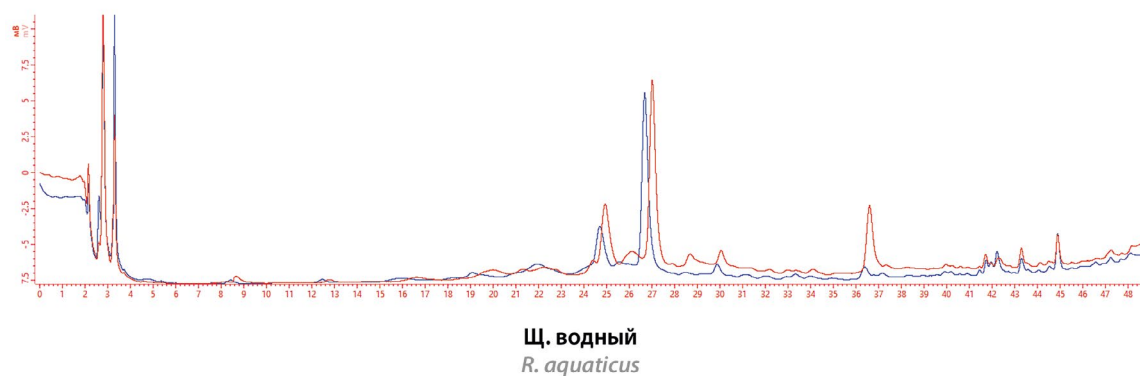
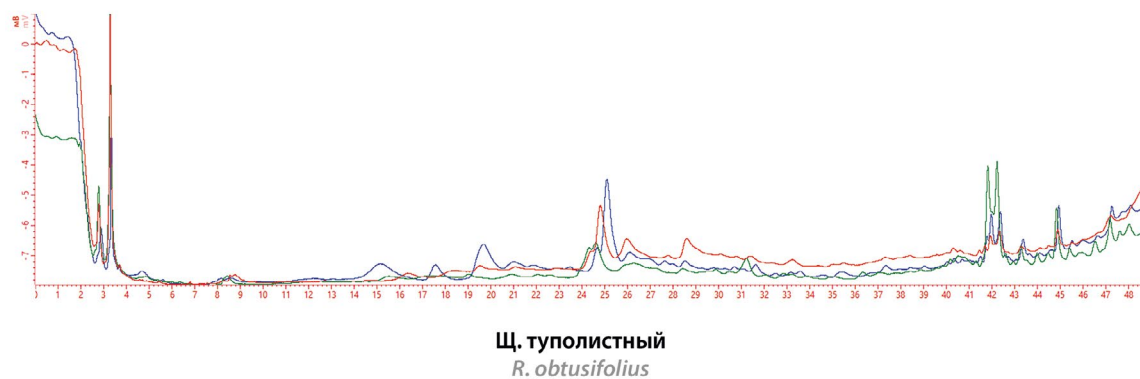
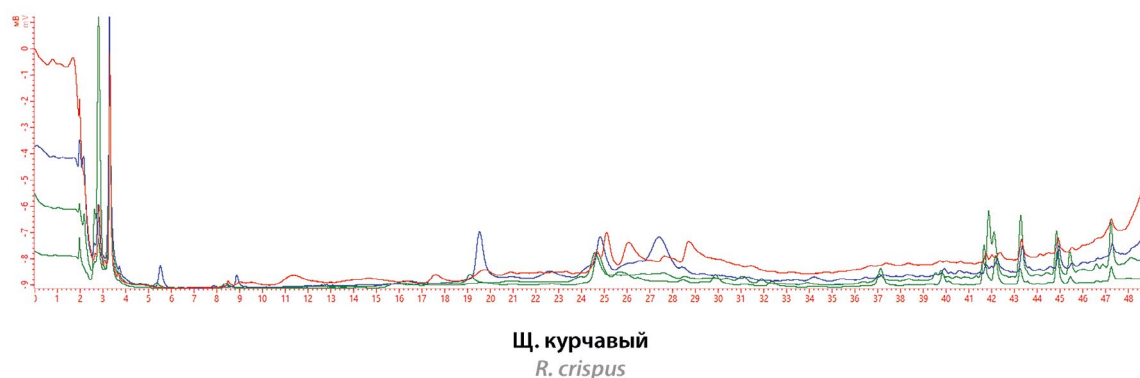
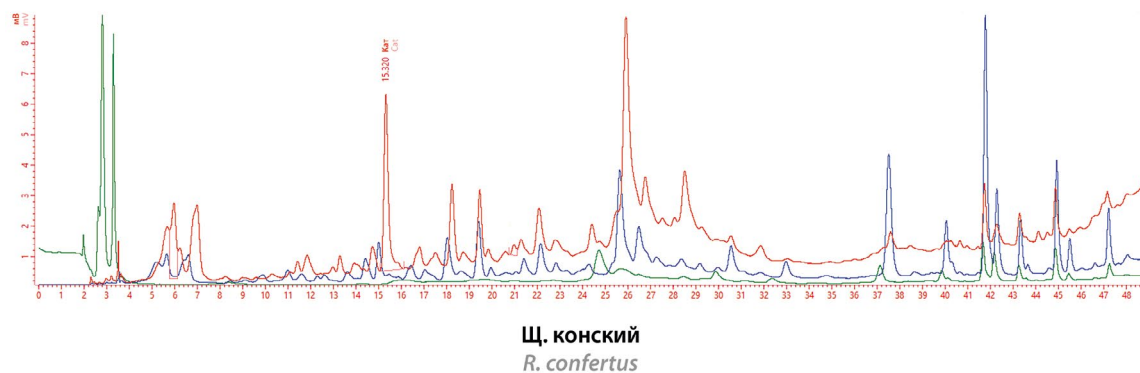


Рисунок 9. Хроматограммы экстрактов из подземных органов:

красная линия – фаза цветения; зеленая линия – конец вегетационного периода; синяя линия – фаза цветения. Начало вегетационного периода

Picture 9. Chromatograms of extracts from underground organs:

red line – flowering period; green line – withering period; blue line – regrowth period

ЛИТЕРАТУРА

- Li J.-J., Li Y.-X., Li N., Zhu H.-T., Wang D., Zhang Y.-J. The genus *Rumex* (Polygonaceae): an ethnobotanical, phytochemical and pharmacological review. *Natural Products and Bioprospecting*. 2022;12:21. DOI: 10.1007/s13659-022-00346-z.
- Vasas A., Orbán-Gyapai O., Hohmann J. The Genus *Rumex*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;175:198–228. DOI: 10.1016/j.jep.2015.09.001.
- Aleixandre-Tudo J. L., Buica A., Nieuwoudt H., Aleixandre J. L., du Toit W. Spectrophotometric Analysis of Phenolic Compounds in Grapes and Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017;65(20):4009–4026. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b01724.
- Sharma K., Kumar V., Kaur J., Tanwar B., Goyal A., Sharma R., Gat Y., Kumar A. Health effects, sources, utilization and safety of tannins: a critical review. *Toxin Reviews*. 2019;40(4):432–444. DOI: 10.1080/15569543.2019.1662813.
- Prakash Mishra A., Sharifi-Rad M., Shariati M. A., Mabhkhot Y. N., Al-Showiman S. S., Rauf A., Salehi B., Župunski M., Sharifi-Rad M., Gusain P., Sharifi-Rad J., Suleria H. A. R., Iriti M. Bioactive compounds and health benefits of edible *Rumex* species-A review. *Cellular and Molecular Biology*. 2018;64(8):27–34. DOI: 10.14715/cmb/2018.64.8.5.
- Feduraev P., Skrypnik L., Nebreeva S., Dzhobadze G., Vatagina A., Kalinina E., Pungin A., Maslennikov P., Riabova A., Krol O., Chupakhina G. Variability of Phenolic Compound Accumulation and Antioxidant Activity in Wild Plants of Some *Rumex* Species (Polygonaceae). *Antioxidants*. 2022;11(2):311 DOI: 10.3390/antiox11020311.
- Емшанова С. В., Потанина О. Г., Буданова Е. В., Чистяков В. В., ред. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание. Том 4. Москва: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2018. 7020 с.
- Wegiera M., Grabarczyk P., Baraniak B., Smolarz H. Antiradical Properties OF Extracts From Roots, Leaves and Fruits of Six *Rumex* L. Species. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 2011;53. DOI: 10.2478/v10182-011-0018-z.
- Данилова Н. А., Попов Д. М. Количественная определение дубильных веществ в корнях щавеля конского методом спектрофотометрии в сравнении с методом перманганатометрии. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2004;2:179–182.
- Litvinenko Yu. A., Muzychkina R. A. Phytochemical Investigation of Biologically Active Substances in Certain Kazakhstan *Rumex* Species. 1. *Chemistry of Natural Compounds*. 2003; 39(5):446–449. DOI: 10.1023/b:conc.0000011117.01356.4c.
- Feduraev P., Chupakhina G., Maslennikov P., Tascenko N., Skrypnik L. Variation in Phenolic Compounds Content and Antioxidant Activity of Different Plant Organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at Different Growth Stages. *Antioxidants*. 2019;8(7):237. DOI: 10.3390/antiox8070237.
- Полуянов А. М., Соколова А. Ю., Малашенко Е. А., Сергунова Е. В., Бобкова Н. В. Выделение, идентификация и количественное определение антраценпроизводных методом ВЭЖХ-УФ в сырье некоторых представителей рода Щавель (*Rumex*) трех сроков вегетации. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):216–225. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-216-225.
- Khoddami A., Wilkes M. A., Roberts T. H. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*. 2013;18(2):2328–2375. DOI: 10.3390/molecules18022328.
- Belščak-Cvitanović A., Durgo K., Huđek A., Bačun-Družina V., Komes D. Overview of polyphenols and their properties. In: Galanakis C. M., editor. *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications*. Sawston: Woodhead Publishing; 2018. P. 3–44. DOI: 10.1016/B978-0-12-813572-3.00001-4.
- Gautam R., Srivastava A., Jachak S. M. Simultaneous determination of naphthalene and anthraquinone derivatives in *Rumex nepalensis* Spreng. Roots by HPLC: comparison of different extraction methods and validation. *Phytochemical Analysis*. 2011;22(2):153–157. DOI: 10.1002/pca.1261.
- Başkan S., Daut-Özdemir A., Günaydın K., Erim F. B. Analysis of anthraquinones in *Rumex crispus* by micellar electrokinetic chromatography. *Talanta*. 2007;71(2):747–750. DOI: 10.1016/j.talanta.2006.05.018.
- Бузук Г. Н., Фомичева А. П., Корожан Н. В., Родионова Н. Н. О возможности применения казеина для количественного определения дубильных веществ в лекарственном растительном сырье. *Вестник фармации*. 2011;4(54):12–17.
- Shermatova G. D., Eshbakova K. A. Determination of tannin content of *Rumex confertus* Willd and *Rumex pamicus* Rech. f. Plants by using standard method. *Austrian Journal of Technical and Natural Sciences*. 2022;5–6:66–67. DOI: 10.29013/AJT-22-5.6-66-67.
- Saoudi M. M., Bouajila J., Rahmani R., Alouani K. Phytochemical Composition, Antioxidant, Antiacetylcholinesterase, and Cytotoxic Activities of *Rumex crispus* L. *International Journal of Analytical Chemistry*. 2021;2021:6675436. DOI: 10.1155/2021/6675436.
- Eom T., Kim E., Kim J.-S. In Vitro Antioxidant, Antiinflammation, and Anticancer Activities and Anthraquinone Content from *Rumex crispus* Root Extract and Fractions. *Antioxidants*. 2020;9(8):726. DOI: 10.3390/antiox9080726.
- Costan C.-A., Godsoe W., Bufford J. L., Hulme P. E. Comparing the Above and Below-Ground Chemical Defences of Three *Rumex* Species Between Their Native and Introduced Provenances. *Journal of Chemical Ecology*. 2023;49(5–6):276–286. DOI: 10.1007/s10886-023-01427-0.
- Тутельяна В. А., Эллера К. И., ред. Методы анализа минорных биологически активных веществ пищи. М.: Диалог; 2010. 180 с.

REFERENCES

- Li J.-J., Li Y.-X., Li N., Zhu H.-T., Wang D., Zhang Y.-J. The genus *Rumex* (Polygonaceae): an ethnobotanical, phytochemical and pharmacological review. *Natural Products and Bioprospecting*. 2022;12:21. DOI: 10.1007/s13659-022-00346-z.
- Vasas A., Orbán-Gyapai O., Hohmann J. The Genus *Rumex*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;175:198–228. DOI: 10.1016/j.jep.2015.09.001.
- Aleixandre-Tudo J. L., Buica A., Nieuwoudt H., Aleixandre J. L., du Toit W. Spectrophotometric Analysis of Phenolic Compounds in Grapes and Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017;65(20):4009–4026. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b01724.

4. Sharma K., Kumar V., Kaur J., Tanwar B., Goyal A., Sharma R., Gat Y., Kumar A. Health effects, sources, utilization and safety of tannins: a critical review. *Toxin Reviews*. 2019;40(4):432–444. DOI: 10.1080/15569543.2019.1662813.
5. Prakash Mishra A., Sharifi-Rad M., Shariati M. A., Mabkhot Y. N., Al-Showiman S. S., Rauf A., Salehi B., Župunski M., Sharifi-Rad M., Gusain P., Sharifi-Rad J., Suleria H. A. R., Iriti M. Bioactive compounds and health benefits of edible *Rumex* species-A review. *Cellular and Molecular Biology*. 2018;64(8):27–34. DOI: 10.14715/cmb/2018.64.8.5.
6. Feduraev P., Skrypnik L., Nebreeva S., Dzhobadze G., Vatagina A., Kalinina E., Pungin A., Maslennikov P., Riabova A., Krol O., Chupakhina G. Variability of Phenolic Compound Accumulation and Antioxidant Activity in Wild Plants of Some *Rumex* Species (Polygonaceae). *Antioxidants*. 2022;11(2):311 DOI: 10.3390/antiox11020311.
7. Emshanova S. V., Potanina O. G., Budanova E. V., Chistyakov V. V., editors. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition. Volume 4. Moscow: Ministry of Health of Russian Federation; 2018. 7020 p. (In Russ.)
8. Wegiera M., Grabarczyk P., Baraniak B., Smolarz H. Antiradical Properties OF Extracts From Roots, Leaves and Fruits of Six *Rumex* L. Species. *Acta Biologica Cracoviensis Series Botanica*. 2011;53. DOI: 10.2478/v10182-011-0018-z.
9. Danilova N. A., Popov D. M. The Quantitative evaluation of tannins in *Rumex confertus* using spectrophotometry in comparison with the permanganometry method. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2004;2:179–182. (In Russ.)
10. Litvinenko Yu. A., Muzychkina R. A. Phytochemical Investigation of Biologically Active Substances in Certain Kazakhstan *Rumex* Species. 1. *Chemistry of Natural Compounds*. 2003; 39(5):446–449. DOI: 10.1023/b:conc.0000011117.01356.4c.
11. Feduraev P., Chupakhina G., Maslennikov P., Tacenko N., Skrypnik L. Variation in Phenolic Compounds Content and Antioxidant Activity of Different Plant Organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at Different Growth Stages. *Antioxidants*. 2019;8(7):237. DOI: 10.3390/antiox8070237.
12. Poluyanov A. M., Sokolova A. Yu., Malashenko E. A., Sergunova E. V., Bobkova N. V. Isolation, Identification and Quantitative Determination of Anthracene Derivatives by HPLC-UV Method in the Raw Materials of Some Representatives of the Genus *Rumex* of Three Vegetation Times. *Drug development & registration*. 2022;11(4):216–225. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-216-225.
13. Khoddami A., Wilkes M. A., Roberts T. H. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*. 2013;18(2):2328–2375. DOI: 10.3390/molecules18022328.
14. Belščak-Cvitanović A., Durgo K., Huđek A., Bačun-Družina V., Komes D. Overview of polyphenols and their properties. In: Galanakis C. M., editor. *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications*. Sawston: Woodhead Publishing; 2018. P. 3–44. DOI: 10.1016/B978-0-12-813572-3.00001-4.
15. Gautam R., Srivastava A., Jachak S. M. Simultaneous determination of naphthalene and anthraquinone derivatives in *Rumex nepalensis* Spreng. Roots by HPLC: comparison of different extraction methods and validation. *Phytochemical Analysis*. 2011;22(2):153–157. DOI: 10.1002/pca.1261.
16. Başkan S., Daut-Özdemir A., Günaydin K., Erim F. B. Analysis of anthraquinones in *Rumex crispus* by micellar electrokinetic chromatography. *Talanta*. 2007;71(2):747–750. DOI: 10.1016/j.talanta.2006.05.018.
17. Buzuk G. N., Fomicheva A. R., Korozhan N. V., Rodionova N. N. On the possibility of using casein for the quantitative determination of tannins in medicinal plant raw materials. *Bulletin of Pharmacy*. 2011;4(54):12–17. (In Russ.)
18. Shermatova G. D., Eshbakova K. A. Determination of tannin content of *Rumex confertus* Willd and *Rumex pamiricus* Rech. f. Plants by using standard method. *Austrian Journal of Technical and Natural Sciences*. 2022;5–6:66–67. DOI: 10.29013/AJT-22-5.6-66-67.
19. Saoudi M. M., Bouajila J., Rahmani R., Alouani K. Phytochemical Composition, Antioxidant, Antiacetylcholinesterase, and Cytotoxic Activities of *Rumex crispus* L. *International Journal of Analytical Chemistry*. 2021;2021:6675436. DOI: 10.1155/2021/6675436.
20. Eom T., Kim E., Kim J.-S. In Vitro Antioxidant, Antiinflammation, and Anticancer Activities and Anthraquinone Content from *Rumex crispus* Root Extract and Fractions. *Antioxidants*. 2020;9(8):726. DOI: 10.3390/antiox9080726.
21. Costan C.-A., Godsoe W., Bufford J. L., Hulme P. E. Comparing the Above and Below-Ground Chemical Defences of Three *Rumex* Species Between Their Native and Introduced Provenances. *Journal of Chemical Ecology*. 2023;49(5–6):276–286. DOI: 10.1007/s10886-023-01427-0.
22. Tutelyan V. A., Ellera K. I., editors. *Methods for analyzing minor biologically active substances in food*. Moscow: Dynasty; 2010. 180 p. (In Russ.)