

54.061,54.062

ОБЗОР МЕТОДОВ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ТАНИНОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

© А.А. Орлова*, М.Н. Повыдыш

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, ул. Профессора Попова, 14А, Санкт-Петербург, 197022 (Россия), e-mail: anastasiya.lebedkova@spcpu.ru

Танины – обширная группа вторичных метаболитов, широко используемых в медицинской практике и в хозяйственной деятельности человека. Для них характерен широкий спектр фармакологической активности, в том числе противоопухолевая, вяжущая, кровоостанавливающая, антиоксидантная и прооксидантная, противомикробная, противовирусная и другие. Методы, используемые для химического анализа данной группы соединений и для стандартизации танин-содержащих видов растительного сырья, совершенствовались с развитием аналитических методов. Решение вопросов стандартизации и применения гидролизуемых и конденсированных танинов остаются актуальными и на сегодняшний день. В данном обзоре отражены основные вехи исторического развития анализа танинов: от использования качественных капельных реакций и физических свойств веществ, использования простейших физико-химических методов анализа до установления структуры ЯМР-спектроскопией, и от титриметрических методов с использованием химических и физико-химических индикаторов до современных методов высокоэффективной хроматографии с различными типами детекторов, а также использования сочетаний современных физико-химических методов анализа с математическими методами для оценки и прогнозирования качественного и количественного состава танинов и их фармакологического эффекта. Описаны основные виды биологической активности гидролизуемых и конденсированных танинов, полученных из растительных объектов и механизмы их действия.

Ключевые слова: гидролизуемые танины, конденсированные танины, качественный анализ, количественный анализ.

Танины составляют обширную группу вторичных метаболитов растительного сырья, издавна используемую как в медицинской практике, так и в хозяйственной деятельности. На заре исследований танины рассматривались в основном не как перспективная группа биологически активных веществ, а в качестве реагентов в рутинном химическом анализе некоторых веществ, в особенности тяжелых металлов [1]. Также танины использовались в качестве реагентов в различных модификациях методов анализа белков, основанных на реакциях осаждения [2].

В это время широкое распространение получили исследования, связанные с хозяйственным использованием дубильных веществ [3, 4] или с влиянием физиологических особенностей растений на процессы синтеза и накопления дубильных веществ. Так, J.H. Burton (1906) выявил наличие специфических таниновых клеток в плодах хурмы, а F.J. Lloyd (1911) исследовал характер качественных и количественных колебаний содержания дубильных веществ в хурме [5, 6]. R.E. Stitt и I.D. Clarke изучали вопросы изменения содержания танина в образцах *Sericea lepedeza* в зависимости от времени заготовки [7]. Однако фитохимические исследования танинов достаточно редко встречаются в публикациях данного периода. Так, были проведены анализы минорных компонентов таниновой природы коры дуба [8], выявлена химическая природа танина древесины красного дерева [9], Y. Oshima (1936) провел фитохимический анализ таниновых субстанций чайных листьев [10].

Орлова Анастасия Андреевна – аспирант,
e-mail: anastasiya.lebedkova@spcpu.ru

Повыдыш Мария Николаевна – доктор биологических наук, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии, начальник отдела научно-исследовательских работ,
e-mail: maria.povydysh@pharminnotech.com

* Автор, с которым следует вести переписку.

Биологическая активность танинов и механизмы их действия

С точки зрения медицинского использования дубильных веществ в ранних работах экспериментально выявлена противоопухолевая активность таниновых экстрактов [11]. Также встречаются упоминания вяжущих, кровоостанавливающих и антисептических свойств дубильных веществ. Затем на достаточно большой период времени ученые потеряли интерес к данной группе соединений. И только в конце 80-х – начале 90-х годов были обнаружены ранее не изученные аспекты биологической активности танинов.

При дисбалансе между системой продукции активных форм кислорода и антиоксидантной системой организма возникают состояния, которые носят название оксидативного стресса. Известно, что фенольные соединения способны индуцировать влияние свободных радикалов и, таким образом, предохранять клетки и ткани организма от повреждений [12–14]. В ряде исследований выявлена антиоксидантная активность полифенольных соединений, в том числе танинов, за счет трех возможных механизмов действия: 1) передача атома водорода от функциональной группы на свободный радикал (рис. 1); 2) перенос электрона от свободного радикала к полифенолу с образованием катиона радикала и последующим быстрым и обратимым депротонированием в растворе (рис. 2); 3) хелатирование металла (рис. 3) [15–20].

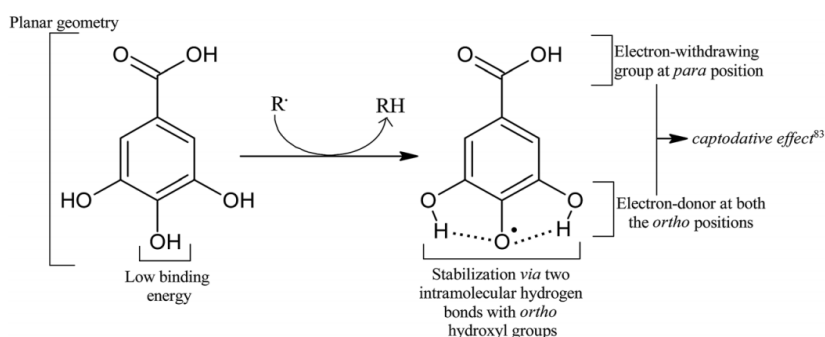


Рис. 1. Механизм антиоксидантного действия танинов на примере молекулы галловой кислоты, связанный с передачей атома водорода на свободный радикал [21]

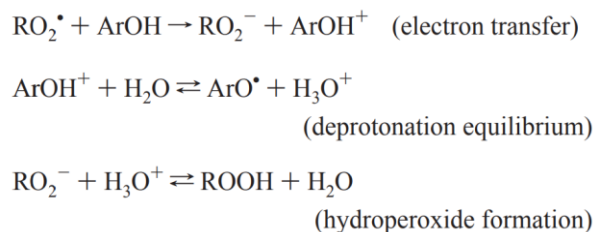


Рис. 2. Механизм антиоксидантного действия танинов, связанный с переносом электрона со свободного радикала на фенольную группу [19]

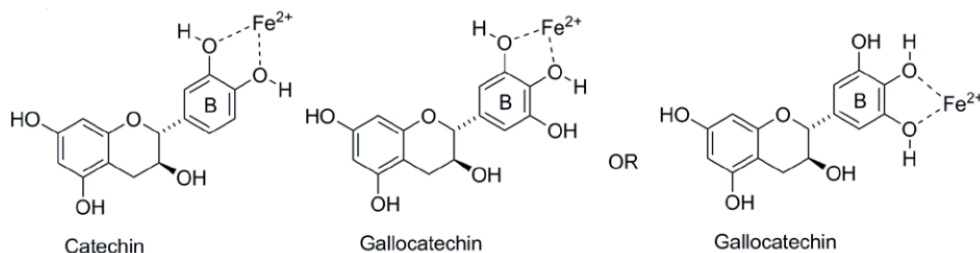


Рис. 3. Механизм антиоксидантного действия танинов на примере катехина и галлокатехина, связанный с хелатированием металлов [22]

С другой стороны, в особых условиях (высокие концентрации, наличие окислительно-восстановительных металлов, высокий pH) танины могут стать прооксидантами в результате автоокисления и быть причиной возникновения оксидативного стресса [13, 23]. Однако стоит отметить, что в определенных состояниях оксидативный стресс может оказывать положительное влияние на организм человека, например, он может разрушать инвазивные патогены или быть основным фактором в механизме противоопухолевого действия полифенолов [14, 24].

Широко исследована антимикробная, антифунгальная и противовирусная активность танинов. В работе Hada et al. (1989) описано снижение адгезивной способности *Streptococcus mutans* под действием галлотанин-обогащенных экстрактов в связи со значительным антигликозилтрансферазным действием [25]. Sakanaka et al. (1996) выявили ингибирующее влияние полифенолов зеленого чая на адгезию бактерий полости рта *Porphyromonas gingivalis*, ответственных за развитие пародонтозов у взрослых [26]. Balde' et al. (1988, 1990, 1991) продемонстрировали антибактериальную активность экстрактов *Pavetta owariensis* и чистых димерных проантоцианидинов против *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* и *Neisseria gonorrhoea*, а также показали зависимость антибактериальной активности от количества флаваноловых остатков в структуре проантоцианидинов. Кроме того, в данных исследованиях выявлена активность против вирусов простого герпеса и Коксаки и в то же время отсутствие активности против вирусов полиомиелита и кори в нетоксичных концентрациях [27–30]. Ozaki et al. (1987) показали связь противовирусной активности танинов со способностью связываться с белковой оболочкой вируса или мембраной клеток-хозяев, предотвращая, таким образом, адсорбцию вируса на клеточной мембране и проникновение его внутрь клетки [31]. Takechi M. et al. (1985) провели исследование связи между структурой танина и его противогерпетической активностью. В ходе данного исследования было выявлено, что активность гидролизуемого танина зависит от количества галлоильных или гексагидроксидифеноильных групп, а конденсированных – от степени их полимеризации [32]. Ubillas et al. (1994) получили конденсированный танин со степенью полимеризации 7 единиц, состоящий из фрагментов проантоцианидинового и продельфинидинового типа из *Croton lechleri* и выявили его противовирусную активность в отношении респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа типа А, вируса парагриппа, связали данную активность со способностью ингибировать проникновения вируса внутрь клетки [33]. Kakiuchi N. et al. (1985 и 1991) продемонстрировали способность эллаготанинов и некоторых конденсированных танинов выступать в качестве ингибиторов обратной транскриптазы. При этом активность танинов зависит от их химической и пространственной структуры, а механизм их действия связан с профилактикой образования комплекса нуклеиновая кислота–фермент [34–36]. Lim et al. (2006) в результате исследования активности гидролизуемых и конденсированных танинов коры *Rhizophora apiculata* выявили ингибирующее влияние гидролизуемых танинов на бактериальные и дрожжевые клетки, а также отсутствие подавляющего влияния на грибные клетки [37]. Mailoa M.N. et al. (2014) показали, что таниновые извлечения из листьев гуавы (*Psidium Guajava L.*), полученные с использованием спирта различной концентрации, способны оказывать подавляющее влияние на рост *Escherichia coli*, *Pseudomonas aureginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* и *Candida albicans* [38].

Известна способность танинов к ингибированию ферментов через различные механизмы. Так, Wagner H. et al (1991) исследовали ингибирующие свойства некоторых танинов на ангиотензин-превращающий фермент (АПФ). Механизм действия в данном случае был связан с хелатированием атома цинка активного центра фермента молекулой танина [39]. Hatano et al. (1990) исследовали ингибирование ксантиноксидазы гидролизуемыми и конденсированными танинами. Было выявлено, что на силу действия влияют степень полимеризации, количество фенольных групп, расположение ацильных групп. Также в ходе данного исследования выявлено, что механизм данного действия не связан с неспецифическим осаждением белков молекулами танинов [40]. Lesuisse et al. (1996) и Ducrey et al. (1997) исследовали на моделях *in vitro* способность эллаготанинов экстрактов *Epilobium* оказывать подавляющее влияние на активность 5- α -редуктазы и ароматазы, участвующих в биосинтезе тестостерона. Подобные исследования были проведены и Kujawski et al. в 2010 году, по результатам которых можно судить об антиандрогенном действии экстрактов *Epilobium*, но сложно делать выводы о возможности их применения в качестве средств, поддерживающих гормональное равновесие стероидов в организме [41–44].

Tits et al. (1991) показали противовоспалительную активность продельфинидинов *Ribes nigrum* на модели формальдегидного отека лапы крысы [45]. Amanlou et al. (2005) изучили противовоспалительную актив-

ность танин-содержащих экстрактов *Satureja khuzistanica Jamzad* в формалиновом тесте и получили сопоставимые противовоспалительные эффекты изучаемого экстракта (150 мг/кг внутрибрюшинно) и индометацина (4 мг/кг внутрибрюшинно), а также антиноцицептивный эффект в дозе 10–150 мг/кг, который был сопоставим с эффектом морфина в дозе 3 мг/кг [46]. Fawole et al. (2009) исследовали противовоспалительный эффект лекарственных растений традиционной медицины Южной Африки и выявили, что большинство исследуемых экстрактов, содержащих полифенолы, в том числе танины, обладали выраженным блокирующим действием на ЦОГ-1, а экстракт корней *Agapanthus campanulatus* высокую ЦОГ-2 ингибирующую активность [47].

Кроме вышеперечисленных аспектов, растительные танины обладают также антимуtagenной, противоопухолевой, противовоспалительной активностью, способны оказывать кардиальные эффекты, стимулировать иммунный ответ и т.д. [36]. Возможные фармакологические эффекты танинов широко исследуются и в настоящее время. Поэтому вопросы идентификации и стандартизации данной группы соединений остаются актуальными.

Методы экстракции танинов из растительного сырья

Экстракция дубильных веществ возможна из растительного материала, подготовленного различными способами. Для подготовки возможно использование как традиционных методов сушки – воздушно-теневая, тепловая или инфракрасная сушки, так и более современных методов – вакуумная сушка растительного сырья или сублимационный метод, который является наиболее удобным при длительном хранении материала [48]. Анализ литературных источников показал, что основными экстрагентами для танинов являются вода, водно-ацетоновые или водно-метанольные смеси [48, 49]. Выбор растворителя в конкретном случае зависит от вида сырья и состава вторичных метаболитов. Так, для сырья с высоким содержанием галлотанинов не рекомендовано использование водно-метанольных смесей с добавлением кислот, так как данная группа соединений легко гидролизует в данных условиях [50, 51]. В более поздних работах проводилась оценка факторов (тип растворителя, степени измельченности сырья, продолжительность экстракции, соотношение растительного материала и растворителя), влияющих на полноту экстракции фенольных соединений, в том числе дубильных веществ. На основании экспериментальных данных были определены оптимальные условия экстракции – 70% спирт этиловый, соотношение сырье : экстрагент – 1 : 40, экстракция в течение 20–25 мин на кипящей водяной бане [52]. Позже выявлено, что наиболее полное извлечение дубильных веществ из сырья достигается с использованием водно-ацетоновой смеси в соотношении 3 : 7, содержащей 0.1% аскорбиновой кислоты для предотвращения окисления фенолов. Экстракцию проводят при комнатной температуре, затем ацетон удаляют под вакуумом при температуре 40 °С. Полученный водный экстракт лиофилизируют и хранят при пониженной температуре до использования [53, 54]. Однако стоит обратить внимание, что использование аскорбиновой кислоты для извлечения дегидрогексагидроксицифеноил-эллаготанинов не рекомендовано из-за их способности образовывать аддукты [48, 55, 56].

Работа с суммарными извлечениями более сложна и менее информативна, в связи с чем обязательно проводят предварительную очистку и фракционирование извлечений. Одним из методов фракционирования и очистки является жидкость-жидкостная экстракция несмешивающимися растворителями. Наиболее предпочтительным методом предварительного разделения гидролизуемых и конденсированных танинов является эксклюзионная хроматография с использованием декстрановых гелей в качестве сорбентов, например, Sephadex LH-20. В качестве элюентов используются водно-спиртовые и водно-ацетоновые смеси [12, 18, 57–59].

Качественный анализ и идентификация танинов

Исторически идентификация групп природных соединений в растительном сырье проводилась классическими химическими методами с использованием качественных реакций. Так, для обнаружения дубильных веществ в водном извлечении в качестве реактивов использовали 5% раствор бихромата калия, 1% раствор желатина в 10% растворе натрия хлорида, соли алкалоидов, свинец уксуснокислый и реактив Фолина-Дениса (смесь фосфорномолибденовой и фосфорновольфрамовой кислот). Классические химические методы также давали возможность определить принадлежность соединений к группе гидролизуемых или конденсированных танинов, например, реакции с солями железа (III) или с бромной водой. Показательным является метод хроматографии в тонком слое сорбента с применением веществ-свидетелей. Но в связи с развитием физико-химических методов анализа на сегодняшний день большей популярностью пользуются методы УФ-спектроскопии, ВЭЖХ с диодно-матричным детектором и ВЭЖХ с масс-селективным детектором, ЯМР-спектроскопия.

Количественное определение танинов в растительном сырье

В основе первых методов количественного определения дубильных веществ лежат титриметрические методы анализа. Классическим титриметрическим методом является метод Левенталья в модификациях Токляя и Курсанова – прямое титрование перманганатом калия с использованием в качестве индикатора индигосульфокислоты. Данный метод использовался как адаптированный метод предварительного анализа танинов [60]. Модификацией метода Левенталья-Курсанова является сочетание классической перманганатометрии с осаждением дубильных веществ желатином. Также широко используется щелочно-йодный метод Шоу (1930) в модификации Токляя, заключающийся в окислении таниновой фракции раствором йода в щелочной среде [61]. Ограничение использования данных методов заключается в неполном окислении таниновой фракции и получение в ходе анализа структур неуточненной природы, а также размытости точки эквивалентности, что не позволяет получить реальные данные о содержании танинов в исследуемых объектах. Альтернативным методом количественного анализа является щелочно-перманганатный метод Штамма, заключающийся в обратном титровании щавелевой кислоты в кислой среде после полного окисления танинов перманганатом калия в щелочной среде. Метод является более длительным и трудозатратным по сравнению с вышеперечисленными методами анализа, но позволяет получить более точные данные, приближенные к реальным значения содержания дубильных веществ в сырье, благодаря выраженной точке эквивалентности и меньшим возможным колебаниям результатов в зависимости от условий анализа и манипуляций аналитика [62, 63].

Одновременно с классической титриметрией широкое распространение получила комплексонометрия. В данном методе дубильные вещества осаждают с использованием 0.1 М раствора сульфата цинка в аммиачном буферном растворе, осадок количественно переносят в колбу для титрования, растворяют в 30% уксусной кислоте. Затем в полученный раствор вносят 5% гидрокарбонат натрия и 1% ксиленоловый оранжевый в качестве индикатора. Полученную смесь оттитровывают 0.01 М раствором Трилона Б до лимонно-желтого окрашивания.

Кроме вышеуказанных методов, использовался гравиметрический Всесоюзный единый метод исследования в кожевенном, обувном и дубильно-экстрактивном производстве (ВЭМ), описанный в 1955 году. В основе данного метода лежало определение суммы танинов по разности масс осадков, полученных осаждением танинов каолином и нетанинов гольевым порошком. В связи с неудобством метода и отсутствием необходимых реактивов в различные исторические периоды он неоднократно подвергался модификации. Так, I. Petricie (1979) предложил использовать вместо гольевого порошка слизистую оболочку кишечника; А.И. Ермаков (1972) получил близкие к методу ВЭМ результаты с использованием желатина [64, 65]. Позже Ю.А. Тюлькова исследовала возможность замены гольевого порошка на коллаген и выявила хорошую сходимость экспериментальных результатов [66].

Следующие периоды характеризуются технологическим развитием анализа, что ведет за собой широкое распространение инструментальных методов. Титриметрия модифицируется заменой индикаторов на физико-химические методы определения точек эквивалентности, например, для турецких и китайских галлов, листьев скумпий кожевенной и листьев сумаха использовался метод потенциометрического неводного титрования в среде диметилформамида и ацетона [67]. Одним из первых методов, используемых наряду с титриметрическим, был спектрофотометрический метод. В основе данного метода лежит измерение оптической плотности водно-спиртовой вытяжки при длине волны 275 нм. Также распространение имеет фотоэлектроколориметрический метод, в основе которого лежит определение поглощения окрашенных растворов, получаемых взаимодействием танинов в растворе с реактивами Фолина, Фолина-Дениса, Фолина-Чокалтеу, ванилинового реактива.

Благодаря наличию в танинах бензольного кольца и сильных хромофоров, метод УФ-спектрофотометрии является удобным и показательным для определения структуры чистого вещества, так как спектр поглощения позволяет определить основные хромофорные структуры исследуемого соединения. Данный метод в настоящее время широко применяется совместно с методом ВЭЖХ, как для идентификации соединений, так и для скрининговых исследований растительных вытяжек (диодно-матричный детектор – ДМД) [51]. Особенно эффективно использовать ДМД при классификации имеющихся во фракциях вторичных метаболитов, беря за основу их характерные УФ-спектры. Например, для фенолов типичны 2 основные полосы поглощения: первичная полоса при 210.5 нм и вторичная – при 270 нм [68, 69]. Добавление же в кольцо дополнительной гидроксигруппы или другого электрон-акцепторного заместителя приводит к сдвигу вторичной полосы поглощения до 280–320

нм [15, 70]. В УФ-спектре галлоил-глюкозы выражены 2 максимума при 218 и 280 нм, причем интенсивность вторичной полосы поглощения зависит от количества галлоильных групп [71]. Галлотанины дают ауксохромный сдвиг с характерным плечом около 300 нм, что обусловлено конъюгацией 2 галлоильных хромофоров [50]. Спектр эллаготанинов, состоящих только из гексагидроксидифеноильных и нонагидрокситрифеноильных групп, не обнаруживается, в связи со специфичностью электронной структуры данных остатков, но если в составе эллаготанина имеются галлоильные группы, то их спектр схож со спектром галлоил-глюкозы, но максимумы поглощений расположены ближе друг к другу [54]. Использование УФ-спектров для идентификации проантоцианидинов на хроматограмме затруднено низкой интенсивностью поглощения в диапазоне 270-290 нм по сравнению с другими фенольными соединениями [72].

Современные методы анализа танинов

Уже достаточно долгое время популярностью пользуется метод ВЭЖХ, так как позволяет за достаточно короткое время выявить наличие большого количества вторичных метаболитов растительного сырья и определить их природу, при этом обладает высокой воспроизводимостью. В рутинном анализе танинов используется жидкостная хроматография со спектрофотометрическим детектором с диодной матрицей, а также масс-спектрометрическим детектором. При этом чаще находят применение обращенно-фазовая хроматография с использованием колонок С8 или С18. При данном типе хроматографии более полярные соединения выходят из колонки в первую очередь, что удобно при работе с танинами. Однако олигомеры проантоцианидинов с коэффициентом полимеризации выше 4 в условиях обращенно-фазовой хроматографии имеют плохую разрешающую способность, что является причиной их плохого разделения. Для улучшения разрешающей способности полимерных проантоцианидинов и гидролизуемых танинов возможно использование нормально-фазовой хроматографии, либо HPLC-хроматографии, при которых разделение происходит в соответствии с размерами молекул [58, 73, 74].

Наиболее удобным и информативным хроматографическим методом считается метод ВЭЖХ-МС, позволяющий идентифицировать метаболиты. На выходе из хроматографической колонки молекулы метаболитов переводятся в газовую фазу и ионизируются с последующим анализом ионов в масс-спектрометре. Для крупных нелетучих и хрупких молекул танинов предпочтительным ионизирующим методом является ионизация распылением в электрическом поле, или электроспрей (ESI) [75]. Возможность использования метода ESI лежит в диапазоне размера молекул от 100 Да до 100 МДа. Другим источником ионов для измерения молекулярной массы танинов методом масс-спектрометрии является бомбардировка быстрыми атомами. Данный метод широко использовался ранее, но сейчас пользуется меньшей популярностью из-за низкого предела масс (до 10 кДа) [12, 76].

В большинстве растительных вытяжек возможно содержание изомеров с одинаковыми молекулярными массами, поэтому их структура не может быть полностью идентифицирована вышеперечисленными методами. В подобных случаях необходимо изолирование конкретного соединения в чистом виде и установление его структуры с использованием метода ядерно-магнитно резонансной спектроскопии (ЯМР-спектроскопия). В ходе анализа ядра атомов ^1H и ^{13}C возбуждаются радиочастотными импульсами в статическом магнитном поле. Каждое ядро в зависимости от своей химической природы выделяет резонансы, которые записываются в спектр. Относительное число ядер, вносящих вклад в тот или иной сигнал, можно определить по интегралу резонанса. Расщепление сигналов возникает в присутствии химически разных ядер, влияющих на сигнал, что может быть использовано для вычисления констант спиновой связи, которые дают информацию о взаимном расположении ядер в пространстве. Для полного восстановления структуры исследуемого соединения необходимо использование двумерных методов: гетероядерная единичная квантовая когерентность – определение протонно-углеродной корреляции одной связи; гетероядерная множественная связь – определение протонно-углеродной корреляции между 2-3 связями; корреляционная спектроскопия с двойной квантовой фильтрацией – показывает корреляцию J-связанных протонов; полная корреляционная спектроскопия – показывает протонные корреляции в одной и той же спиновой системе; спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера – показывает пространственные корреляции протонов. В срезе анализа танинов спектр ЯМР дает понимание природы и количества полифенольных групп в гидролизуемых танинах [77, 78]. Например, в протонных спектрах герианина и его изомеров есть некоторые различия в последовательности резонансов [78]. Эллаготанины с одинаковой молекулярной массой и различными степенями окисления дегидрогексагидроксидифенильной группы легко отличимы по характерным сигналам [51].

В последние несколько лет ученые активно работают над модификацией имеющихся методов, созданием новых, ранее не используемых методов, и поиска сфер для их применения. Например, Ravindra C Sutar et al. (2016) модифицирует описанный в работах Harborne (1998) и Wagner et al. (2001) метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии при помощи новейшего оборудования и с использованием метода ВЭТСХ отпечатков пальцев стандартизует сырье *Holoptelea integrifolia*, широко используемое в индийской народной медицине [79–81]. Кроме того, большим интересом пользуется возможность комбинирования физико-химических методов с математическими, позволяющими наиболее эффективно оценивать и моделировать результаты исследований, а также прогнозировать химические структуры и биологическую активность в зависимости от вводимых характеристик. Так, Fábidos Santos Grasel et al. (2016) использовали некоторые хемометрические методы, в том числе анализ основных компонентов (PCA) и иерархический кластерный анализ (HCA), для разделения конденсированных и гидролизуемых танинов, имеющих очень близкие структуры, в экстрактах *Acacia mearnsii*, *Schinopsis lorentzii*, *Caesalpinia spinosa*, *Castanea sativa*, *Quercus aegilops* и *Terminalia chebula*, чего сложно добиться при использовании традиционных методов [82].

Сравнительно недавно популярность в химическом анализе приобрел метод спектроскопии комбинационного рассеяния – рамановская спектроскопия. Рамановская спектроскопия является инновационным не деструктивным методом, перспективы использования которого еще не до конца изучены. Данный метод позволяет проводить исследования в образцах различной природы, в том числе анализ извлечений из лекарственного растительного сырья. Таким образом, был изучен состав полифенольных соединений экстракта коры *Pinus radiata* при создании двухкомпонентной грунтовки на основе эпокси-полиамидной смолы. Наиболее информативным оказалось исследование данным методом образования комплексов железа и танинов [83]. На основании возможности обнаружения железо-танатных комплексов данный метод широко используется для исследования антикоррозийного эффекта дубильных веществ природного и синтетического происхождения [84, 85]. В работах выяснено, что 1% растворы дубильных веществ ускоряют процесс коррозии и коррозионной усталости металла за счет разложения с выделением в водную среду свободных кислот, которые потенцируют коррозионные процессы, а также за счет низкого сродства ионов железа к малой концентрации молекул танинов в среде. 3% и 5% растворы, напротив, оказывают ингибирующее влияние на коррозионные процессы благодаря образованию железо-танатов, выступающих в качестве электроизолятов.

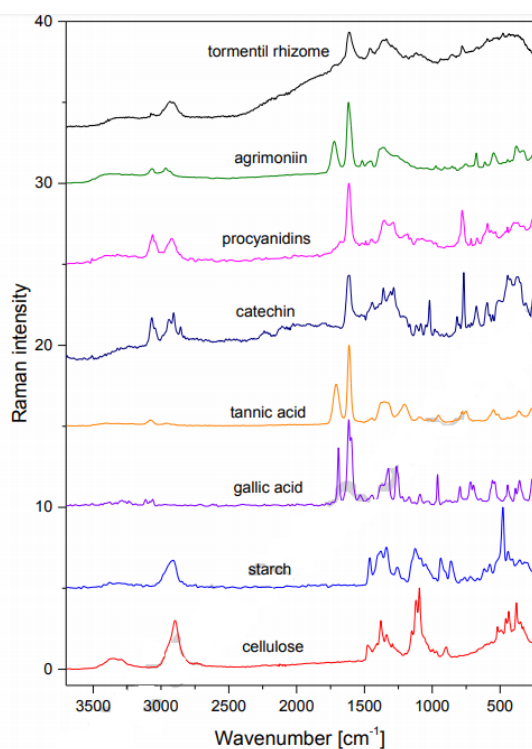


Рис. 4. Интенсивность комбинационного рассеяния танинов [84]

Метод рамановской спектроскопии также возможно использовать в фитохимическом анализе (рис. 4). Mazurek e tal. (2018) провел количественную оценку основных групп биологически активных соединений в корневищах *Potentilla tormentilla*, показав удобство протоколов исследования химических компонентов лекарственного растительного сырья без предварительной экстракции. Кроме того, в данном методе используется многомерное моделирование, что позволяет проводить одновременную оценку количества различных групп полифенолов [86].

Одна из модификаций метода рамановской спектроскопии – рамановская микроспектроскопия может использоваться для оценки влияния различных биологически активных соединений, в том числе дубильных веществ и иных полифенолов, на клеточные культуры. Исследование Mignolet et al. (2018) открывает возможность ингибирующего влияния полифенолов на раковые клетки человека. При помощи мэппинга определялась концентрация раковых маркеров на субклеточном уровне на линиях, не подвергавшихся и подвергавшихся действию полифенолов. В ходе исследования было вы-

явлено достоверное снижение концентрации раковых маркеров в клеточных линиях, обработанных данной группой биологически активных соединений [87]. Результаты этой работы открывают новые возможности в терапии онкологических заболеваний.

Фармакопейный анализ танин-содержащего растительного сырья

Стандарты анализа основных групп биологически активных веществ регламентированы Государственными фармакопеями (табл.). На сегодняшний день ведущие фармакопеи мира включают статьи на лекарственное растительное сырье и методы его анализа. Зарубежные фармакопеи (Европейская фармакопея 8.0, Британская фармакопея) используют сходные методы анализа танинов. Качественный анализ проводят с использованием осадительных реактивов либо метода тонкослойной хроматографии с веществами-свидетелями. Основным методом количественного анализа в них является колориметрический, или осадительный, метод анализа, основанный на определении суммы танинов по разнице показателя поглощения суммы полифенолов в исследуемом извлечении с добавлением фосформолибденовой кислоты, и показателя поглощения полифенолов нетаниновой природы после осаждения танинов кожным порошком с последующим добавлением фосформолибденовой кислоты. Процентное содержание танинов определяется в пересчете на пирогаллол [88, 89]. Фармакопейный анализ в Соединенных Штатах Америки отличается наиболее широким использованием современных методов. Так, например, для идентификации групп танинов используются методы тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Количественное содержание танинов оценивается методом ВЭЖХ – УФ. В качестве исключения могут использоваться качественные реакции (с раствором железа хлорида, раствором осмия тетроксидом) и спектроскопия в видимой области [90].

Фармакопейные методы анализа танин-содержащих видов лекарственного растительного сырья

Фармакопея	Наименование сырья	Производящее растение	Качественный анализ	Количественный анализ	Норматив содержания танинов в сырье
1	2	3	4	5	6
ГФ XIV, 2018 [89]	Bergeniae crassifoliae rhizomata	<i>Bergenia crassifolia</i> L.	Раствор железа (III) аммония сульфат 1% или раствор железа (III) хлорид 1%	Метод 1 ОФС 1.5.3.0008.18 Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах	Не менее 20%
	Quercus cortex	<i>Quercus robur</i> L. <i>Q. petraea</i> L.			Не менее 7%
	Bistortae rhizomata	<i>Bistorta major</i> S.F. Gray (<i>Polygonum bistorta</i>), <i>Bistorta carnea</i> (C. Koch) Kom. (<i>P. carneum</i>)			Не менее 15%
	Viburni opuli cortex	<i>Viburnum opulum</i> L.			Не менее 4%
	Sanguisorbae officinalis rhizomata cum radicibus	<i>Sanguisorba officinalis</i> L.			Не менее 14%
	Potentillae erectae rhizomata	<i>Potentilla erecta</i> L. Raeusch.			Не менее 20%
	Alni fructus	<i>Alnus incana</i> (L.) Moench., <i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.			Не менее 10%
Padi avii fructus	<i>Padus avium</i> L.	нет	нет	Не менее 1.7%	
Hyperici herba	<i>Hypericum perforatum</i> L., <i>H. maculatum</i> Crantz. (<i>H. quadrangulum</i> L.)				

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6			
	Acori calami rhizomata	<i>Acorus calamus</i> L.	Раствор свинца (II) ацетата основного					
British Pharmacopoeia 2017, Vol. IV [86] European Pharmacopoeia 9.0, Vol. I., 2017 [87]	Agrimoniae herba	<i>Agrimonia eupatoria</i> L.	ТСХ с растворами сравнения отдельных компонентов	Фотоколориметрически по разнице показателя поглощения до и после осаждения танинов кожным порошком.	Не менее 2% в пересчете на пирогаллол Не менее 6% в пересчете на пирогаллол Не менее 1% в пересчете на пирогаллол Не менее 3% в пересчете на пирогаллол Не менее 3% в пересчете на пирогаллол Не менее 5% в пересчете на пирогаллол Не менее 3% в пересчете на пирогаллол Не менее 5% в пересчете на пирогаллол			
	Alchemillae herba	<i>Alchemilla vulgaris</i> L.						
	Myrtilli fructus siccus	<i>Vaccinium myrtillus</i> L.						
	Bistortae rhizoma	<i>Polygonum bistorta</i> L.						
	Hamamelis folium	<i>Hamamelis virginialis</i> L.						
	Lythri herba	<i>Lythrum salicaria</i> L.						
	Quercus cortex Pelargonii radix	<i>Quercus robur</i> L., <i>Q. petraea</i> L., <i>Q. pubescens</i> L.						
	Ratanhiae radix	<i>Krameria triandra</i> L.						
	Sanguisorba radix	<i>Sanguisorba officinalis</i> L.				ТСХ с растворами сравнения отдельных компонентов	Фотоколориметрически по разнице показателя поглощения до и после осаждения танинов кожным порошком.	Не менее 5% в пересчете на пирогаллол Не менее 7% в пересчете на пирогаллол Не менее 2% в пересчете на пирогаллол
	Tormentillae rhizoma	<i>Potentilla erecta</i> L.						
Pelargonii radix	<i>Pelargonium sidoides</i> L.							
United States Pharmacopoeia 40 – the National Formulary 35, Vol. 1., 2017 [88]	Grape Seeds Oligomeric Proanthocyanidins	<i>Vitis vinifera</i> L.	ТСХ со стандартными растворами	ВЭЖХ с УФ-детектором (280 нм)	Не менее 75% олигомерных проантоцианидинов			
	Powdered Decaffeinated Green Tea Extract	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	ТСХ со стандартными растворами, ВЭЖХ со стандартным раствором В.	ВЭЖХ с УФ-детектором (278 нм)	Не менее 60% полифенолов в пересчете на (-)-эпигаллокатехин-3-О-галлат и не менее 40% (-)-эпигаллокатехин-3-О-галлата			
	Maritime Pine	<i>Pinus pinaster</i> Aiton	Качественная реакция со смесью бутанола и хлористоводородной кислоты (95:5), ТСХ со стандартными растворами	Фотоколориметрия по реакции со смесью бутанола и хлористоводородной кислоты (95 : 5) (551 нм)	Не менее 8% и не более 12% процианидинов			

Окончание таблицы

1	2	3	4	5	6
	Maritime Pine Extract	<i>Pinus pinaster</i> Aiton	Качественная реакция со смесью бутанола и хлористоводородной кислоты (95 : 5), ТСХ со стандартными растворами, ВЭЖХ-УФ (280 нм) со стандартным раствором	Фотоколориметрия по реакции со смесью бутанола и хлористоводородной кислоты (95:5) (551 нм)	Не менее 65% и не более 75% процианидинов

В Государственную фармакопею XIV РФ включено 8 танин-содержащих видов лекарственного растительного сырья: бадана толстолистного корневища (*Bergeniae crassifoliae rhizomata*), дуба кора (*Quercus cortex*), змеевика корневища (*Bistortae rhizomata*), калины обыкновенной кора (*Viburni opuli cortex*), кровохлебки лекарственной корневища с корнями (*Sanguisorbae officinalis rhizomata cum radicibus*), лапчатки прямостоячей корневища (*Potentillae erectae rhizomata*), ольхи соплодия (*Alni fructus*), черемухи обыкновенной плоды (*Padi avii fructus*). Еще в двух видах сырья: айра обыкновенного корневища (*Acori calami rhizomata*) и зверобоя трава (*Hyperici herba*) проводят идентификацию данной группы соединений. Для качественного анализа танинов ГФ XIV предлагает традиционные химические методы с использованием растворов свинца (II) ацетата основного, желатина 1%, железа (III) аммония сульфата 10% или железа (III) хлорида 1%. Для количественного анализа содержания дубильных веществ в растительном сырье Государственная Фармакопея XIV издания предлагает общую фармацевтическую статью 1.5.3.0008.18 Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. В данной статье описано два метода анализа: метод 1 – перманганатометрический метод в пересчете на танин, метод 2 – спектрофотометрический метод с использованием кожного порошка, схожий с методом зарубежных фармакопей. Содержание дубильных веществ определяется в пересчете на пирогаллол или (+)-катехин в абсолютно сухом растительном материале [91].

Таким образом, проведенное исследование показало, что методы качественного и количественного анализа танинов прошли длинный путь от простейших классических химических до интереснейших сложных в аппаратном и эксплуатационном отношении методов, а широкий спектр видов биологической активности делает эту группу соединений перспективной для дальнейших исследований.

Список литературы

- Holness H. Tannin as a reagent in qualitative analysis // *Analytica Chimica Acta*. 1949. N3. Pp. 290–294. DOI: 10.1016/s0003-2670(00)87343-2(1949).
- Mejbaum-Katzenellenbogen W. Turbidimetric micro-method for estimating protein by means of tannin // *Acta Biochimica Polonica*. 1955. Vol. 2. Pp. 279–296.
- Watkins P.E., White T. The use of tannin extracts to modify the physical properties of the clay suspension // *Proceedings of the Second International Congress of Surface Activity*. London: Butterworths, 1957. Pp. 183–196.
- Spiers C.W. The Estimation of Tannin in Cider // *The Journal Agricultural Science*. 1914. Vol. 6. N1. Pp. 77–83.
- Howard B.J. Tannin Cells of Persimmons // *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 1906. Vol. 33. N11. Pp. 567–576. DOI: 10.2307/2478934.
- Lloyd F.E. The behavior of tannin in persimmons, with some notes on ripening // *The Plant World*. 1911. Vol. 14. N1. Pp. 1–14.
- Stitt R.E., Clarke I.D. The Relation of Tannin Content of *Sericea Lespedeza* to Season // *American Society of Agronomy*. 1941. N33. P. 739.
- Kirby K.S., White T. Minor constituents of Quebracho tannin extract // *Biochem Journal*. 1955. N60(4). Pp. 582–590.
- Buchanan M.A., Lewis H.F., Kurth E.F. Chemical Nature of Redwood Tannin and Phlobaphene // *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 1944. N36(10). Pp. 907–910.
- Oshima Y. Chemical Studies on the Tannin Substance of Formosan Tea-Leaves // *Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan*. 1936. N12(8). Pp. 103–114. DOI: 10.1271/bbb1924.12.103.

11. Kirby K.S. Induction of Tumours by Tannin Extracts // *British Journal of Cancer*. 1960. N14(1). Pp. 147–153.
12. Okuda T., Yoshida T., Hatano T. New methods of analyzing tannins // *Journal of Natural Products*. 1989. N52(1). Pp. 1–31. DOI: 10.1021/np50061a001.
13. Ahmad P., Jaleel C.A., Salem M.A., Nabi G., Sharma S. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress // *Critical Reviews of Biotechnology*. 2010. N30(3). Pp. 161–175. DOI: 10.3109/07388550903524243.
14. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress // *Biochemistry Society Transaction*. 2007. N35(5). Pp. 1147–1150. DOI: 10.1042/BST0351147.
15. Quideau S., Deffieux D., Douat-Casassus C., Pouységu L. Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis // *Angewandte Chemie International Edition*. 2011. N50. Pp. 586–621. DOI: 10.1002/anie.201000044.
16. Leopoldini M., Russo N., Toscano M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants // *Food Chemistry Journal*. 2011. N125. Pp. 288–306. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.08.012.
17. Pulido R., Bravo L., Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay // *Journal Agricultural Food Chemistry*. 2000. N48. Pp. 3396–3402. DOI: 10.1021/jf9913458.
18. Pfundstein B., El Desouky S.K., Hull W.E., Haubner R., Erben G., Owen R.W. Polyphenolic compounds in the fruits of Egyptian medicinal plants (*Terminalia bellerica*, *Terminalia chebula* and *Terminalia horrida*): Characterization, quantitation and determination of antioxidant capacities // *Phytochemistry*. 2010. N71. Pp. 1132–1148. DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.03.018.
19. Wright J.S., Johnson E.R., DiLabio G.A. Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituents effects, and application to major families of antioxidants // *Journal of the American Chemistry Society*. 2001. N123. Pp. 1173–1183. DOI: 10.1021/ja002455u.
20. Galati G., O'Brien P.J. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventative and anticancer properties // *Free Radical Biology & Medicine*. 2004. N37(3). Pp. 287–303. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.04.034.
21. Badhani B., Sharma N., Kakkar R. Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications // *RSC Advances*. 2015. N5(35). Pp. 27540–27557. DOI: 10.1039/c5ra01911g.
22. Naumann H.D., Tedeschi L.O., Zeller W.E., Huntley N.F. The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitation and future directions // *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2017. N46(12). Pp. 929–949. DOI: 10.1590/s1806-92902017001200009.
23. Palanisamy U.D., Ling L.T., Manaharan T., Appleton D. Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity // *Food Chemistry*. 2011. N127. Pp. 21–27. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.12.070.
24. Sergediené E., Jönsson K., Szymusiak H., Tyrakowska B., Rietjens I., Cénas N. Prooxidant toxicity of polyphenolic antioxidants to HL-60 cells: description of quantitative structure-activity relationships // *FEBS Letters*. 1999. N462. Pp. 392–396. DOI: 10.1016/S0014-5793(99)01561-6.
25. Hada S., Hattori M., Namba T. Dental caries prevention by traditional medicines. XII. Effect of components of *Ganoderma lucidum* on glucosyltransferase from *Streptococcus mutans* // *Journal of Medical Pharmaceutical Wakan Yaku Society*. 1989. N6. Pp. 100–104.
26. Sakanaka S., Aizawa M., Kim M., Yamamoto T. Inhibitory Effects of Green Tea Polyphenols on Growth and Cellular Adherence of an Oral Bacterium, *Porphyromonas gingivalis* // *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 1996. N60(5). Pp. 745–749. DOI: 10.1271/bbb.60.745.
27. Baldé, A.M., Claeys, M., Pieters, L., Wray, V., Vlietinck, A. Structure and Antimicrobial Activity Relationship of Doubly-Linked Procyanidins // *Planta Medica*. 1991. N57. Suppl. 2. Pp. A42-A43.
28. Balde' A.M. Biological and Phytochemical Investigations on Three Plants Widely Used in Guinean Traditional Medicine: Ph.D. Thesis, University of Antwerp. Belgium, 1990.
29. Balde' A.M., Van Hoof L., Pieters L.A., Vanden Berghe D.A., Vlietinck A.J. Plant antiviral agents. VII. Antiviral and antibacterial proanthocyanidins from the bark of *Pavetta owariensis* // *Phytotherapy Research*. 1990. N45. Pp. 182–188. DOI: 10.1002/ptr.2650040505.
30. Balde' A.M., Pieters L.A., Wray V., Kolodziej H., Vanden Berghe D.A., Claevys M., Vlietinck A.J. Dimeric and trimeric proanthocyanidins possessing a doubly linked structure from *Pavetta owariensis* // *Phytochemistry*. 1991. N30. Pp. 4129–4135.
31. Ozaki Y., Okashi T., Minami A., Nakamura S. Enhanced resistance of mice to bacterial infection induced by recombinant human interleukin-1a // *American Society for Microbiology Journals*. 1987. N55. Pp. 1436–1440.
32. Takechi M., Tanaka Y., Takehara M., Nonaka G.-I., Nishioka I. Structure and antihyperthermic activity among the tannins // *Phytochemistry*. 1985. N24(10). Pp. 2245–2250. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)83018-6.
33. Ubillas R., Jolad S., Bruening R., Kernan M., King S., Sesin D., Barrett M., Stoddart C., Flaster T., Kuo J., Ayala F., Meza E., Castanel M., McMeekin D., Rozhon E., Tempesta M., Barnard D., Huffman J., Smeed D., Sidwell R., Soike K., Brazier A., Safrin S., Orlando R., Kenny P., Berova N., Nakanishi K. SP-303, an antiviral oligomeric proanthocyanidin from the latex of *Croton lechleri* (Sangre de Drago) // *Phytomedicine*. 1994. N1. Pp. 77–106. DOI: 10.1016/S0944-7113(11)80026-7.
34. Kakiuchi N., Hattori M., Namba T. Inhibitory Effect of Tannins on Reverse Transcriptase from RNA Tumor Virus // *Journal of Natural Products*. 1985. N48(4). Pp. 614–621. DOI: 10.1021/np50040a016.

35. Kakiuchi N., Kusumoto I., Hattori M., Namba T., Hatano T., Okuda T. Effect of condensed tannins and related compounds on reverse transcriptase // *Phytotherapy Research*. 1991. N5. Pp. 270–272. DOI: 10.1002/ptr.2650050609.
36. Bruyne T.D., Pieters L., Deelstra H., Vlietinck A. Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities // *Biochemical Systematics and Ecology*. 1999. N27(4). Pp. 445–459. DOI: 10.1016/S0305-1978(98)00101-X.
37. Lim S.H., Darah I., Jain K. Antimicrobial Activities of Tannins Extracted from *Rhizophora apiculata* Barks // *Journal of Tropical Forest Science*. 2006. Vol. 18. N1. Pp. 59–65.
38. Mailoa M.N., Mahendradatta M., Laga A., Djide N. Antimicrobial Activities of Tannins Extract From Guava Leaves (*Psidium Guajava L.*) on Pathogens Microbial // *International Journal of Scientific & Technology Research*. 2014. Vol. 3. N1. P. 236–241.
39. Wagner H., Elbl G., Lotter H., Guinea M. Evaluation of natural products as inhibitors of angiotensin I-converting enzyme (ACE) // *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*. 1991. N1. Pp. 15–18.
40. Hatano T., Edamatsu R., Hiramatsu M., Mori A., Fujita Y., Yashuhara T., Yoshida T., Okuda T. Effects of the Interaction of Tannins with Co-Existing Substances. VI: Effects of Tannins and Related Polyphenols on Superoxide Anion Radical, and on 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1989. N37(8). Pp. 2016–2021. DOI: 10.1248/cpb.37.2016.
41. Lesuisse M., Casteras-Simon M., Labbe P. Evidence for the *Saccharomyces cerevisiae* Ferrireductase System Being a Multicomponent Electron Transport Chain // *Journal of Biological Chemistry*. 1996. N271(23). Pp. 13578–13583. DOI: 10.1074/jbc.271.23.13578.
42. Ducrey B., Marston A., Gohring S., Hartmann R.W., Hostettmann K. Inhibition of 5 α -Reductase and Aromatase by the Ellagitannins Oenothin A and Oenothin B from *Epilobium* Species // *Pharmacology and Molecular Biology*. 1997. N63(2). Pp. 111–114. DOI: 10.1055/s-2006-957624.
43. Kujawski M., Zhang C., Herrmann A., Reckamp K., Scuto A., Jensen M., Deng J., Forman S., Figlin R., Yu H. Targeting STAT3 in Adoptive Transferred T Cells Promotes Their In Vivo Expansion and Antitumor Effects // *Microenvironment and Immunology*. 2010. Vol. 70. N23. Pp. 9599–9610. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1293.
44. Granica S., Piwowarski J.P., Czerwinska M.E., Kiss A.K. Phytochemistry, pharmacology and traditional uses of different *Epilobium* species (*Onagraceae*): A review // *Journal of Ethnopharmacology*. 2014. N156. Pp. 316–346. DOI: 10.1016/j.jep.2014.08.036.
45. Tits M., Angenot L., Damas J., Dierckxsens Y., Poukens P. Anti-Inflammatory Prodeiphenidins from Black Currant (*Ribes nigrum*) Leaves // *Planta Medica*. 1991. N57. P. A134.
46. Amanlou M., Dadkhah F., Salehnia A., Farsam H., Dehpour A.R. An anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of hydroalcoholic extract of *Satureja khuzistanica* Jamzad extract // *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences: a Publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe Canadienne des Sciences Pharmaceutiques*. 2005. N8(1). Pp. 102–106.
47. Fawole O.A., Ndhlala A.R., Amoo S.O., Finnie J.F., Van Staden J. Anti-inflammatory and phytochemical properties of twelve medicinal plants used for treating gastro-intestinal ailments in South Africa // *Journal of Ethnopharmacology*. 2009. N123(2). Pp. 237–243. DOI: 10.1016/j.jep.2009.03.012.
48. Scalbert A. Quantitative methods for the estimation of tannins in plant tissues // *Plant polyphenols*. Plenum Press, New York, 1992. Pp. 259–280.
49. Barbehenn R.V., Martin M.M., Hagerman A.E. Reassessment of the roles of the peritrophic envelope and hydrolysis in protecting polyphagous grasshoppers from ingested hydrolyzable tannins // *Journal of Chemistry Ecology*. 1996. N22(10). Pp. 1901–1919. DOI: 10.1007/BF02028511.
50. Arapitsas P., Menichetti S., Vincieri F.F., Romani A. Hydrolysable tannins with the hexahydroxydiphenoyl unit and the m-depsidic link: HPLC-DAD-MS identification and model synthesis // *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 2007. N55. Pp. 48–55. DOI: 10.1021/jf0622329.
51. Tuominen A. Tannins and other polyphenols in *Geranium sylvaticum*: Identification, intraplant distribution and biological activity. Turku, 2017. 241 p.
52. Buzuc G.N., Lovkova M.Y., Ershik O.A., Sokolova S.M. A new source of Proanthocyanidins with antiarthritic activity: Purple marshlocks (*Comarum palustre L.*) rhizome and roots // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2008. N421(1). Pp. 211–213. DOI: 10.1134/s1607672908040121.
53. Chen X-X., Shi Y., Chai W-M., Feng H-L., Zhuang J.-X., Chen Q-X. Condensed Tannins from *Ficus virens* as Tyrosinase Inhibitors: Structure, Inhibitory Activity and Molecular Mechanism // *PLoS ONE*. 2014. N9(3). Pp. 1–12. DOI: 10.1371/journal.pone.0091809.
54. Moilanen J., Sinkkonen J., Salminen J-P Characterization of bioactive plant ellagitannins by chromatographic, spectroscopic and mass spectrometric methods // *Chemoecology*. 2013. N23. Pp. 165–179. DOI: 10.1007/s00049-013-0132-3.
55. Okuda T., Yoshida T., Hatano T., Ikeda Y., Shingu T., Inoue T. Constituents of *Geranium thunbergii* SIEB. et ZUCC. XIII. 1) Isolation of water-soluble tannins by centrifugal partition chromatography, and biomimetic synthesis of elaeocarpusin // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1986. N34(10). Pp. 4075–4082. DOI: 10.1248/cpb.34.4075.
56. Peng S., Jay-Allemand C. Use of antioxidants in extraction of tannins from walnut plants // *Journal of Chemistry Ecology*. 1991. N17(5). Pp. 887–896. DOI: 10.1007/BF01395597.
57. Moilanen J., Salminen J.-P. Ecologically neglected tannins and their biologically relevant activity: chemical structures of plant ellagitannins reveal their in vitro oxidative activity at high pH // *Chemoecology*. 2008. N18. Pp. 73–83. DOI: 10.1007/s00049-007-0395-7.

58. Karonen M., Loponen J., Ossipov V., Pihlaja K. Analysis of proanthocyanidins in pine bark with reversed-phase and normal-phase high-performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry // *Analitica Chimica Acta*. 2004. Vol. 522. N1 Pp. 105–112. DOI: 10.1016/j.aca.2004.06.041.
59. Yanagida A., Shoji T., Shibusawa Y. Separation of proanthocyanidins by degree of polymerization by means of size-exclusion chromatography and related techniques // *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2003. N56. Pp. 311–322. DOI: 10.1016/S0165-022X(03)00068-X.
60. Skinner W.W. Official and Tentative Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. Minneapolis, 1936. P. 196.
61. Shaw. Tannin Principles of Tea. Madras: United Planters' Association of South India, 1930.
62. Bottger W. Newer Methods of Volumetric Chemical Analysis // *Zeitschrift fur Physikalische Chemie*. 1938. N24. P. 293.
63. Barua D.N., Houghton Roberts E.A. Methods for the volumetric estimation of tea tannin in green leaf and black tea. A new alkaline permanganate method // *Biochem Journal*. 1940. N34(12). Pp.1524–1531.
64. Petricic I., Poljak Baresie N. Ein neues Gerbstoffe best I mmengeverfahren nuttels Dunndarmschleimhaut // *Archiv der Pharmazie*. 1979. N10. Pp. 689–691.
65. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений. Л.: Колос, 1972. 456 с.
66. Тюлькова Ю.А., Рязанова Т.В., Кременко О.Н. Модификация всеоюзного единого метода для определения содержания дубящих веществ в экстрактах коры хвойных // *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. 2014. №7. С. 298–305.
67. Гринько Е.Н. Требования российской и европейской фармакопеи к методикам определения содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье // *Фармация*. 2010. №5. С. 49–53.
68. Hase T. Tables for organic spectrometry. 8th edition. Otatieto, Helsinki, 1999. Pp. 20–39.
69. Kaur H. Ultraviolet spectroscopy // *Spectroscopy*. Meerut: Pragati Prakashan, 2009. Pp. 258–321.
70. Santos-Buelga C., García-Viguera C., Tomás-Barberán F.A. On-line identification of flavonoids by HPLC coupled to diode array detection // *Methods in polyphenol analysis*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2003. Pp. 92–127.
71. Loponen E., Pihlaja K. Characterisation of hydrolysable tannins from leaves of *Betula pubescens* by high-performance liquid chromatography – mass spectrometry // *Journal of Chromatography A*. 1999. Vol. 864. N2. Pp. 283–291. DOI: 10.1016/S0021-9673(99)01036-5.
72. Akdemir Z.Ş., Tath İ.İ., Saracoğlu İ., İsmailoğlu U.B., Şahin-Erdemli İ., Caliş İ. Polyphenolic compounds from *Geranium pratense* and their free radical scavenging activities // *Phytochemistry*. 2001. Vol. 56. N2. Pp. 189–193. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)00367-8.
73. Karonen M., Liimatainen J., Sinkkonen J. Birch inner bark procyanidins can be resolved with enhanced sensitivity by hydrophilic interaction HPLC-MS // *Journal of Separation Science*. 2011. Vol. 34. N22. Pp. 3158–3165. DOI: 10.1002/jssc.201100569.
74. Valls J., Millán S., Martí M.P., Borràs E., Arola L. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavonols // *Journal of Chromatography A*. 2009. Vol. 1216. N43. Pp. 7143–7172. DOI: 10.1016/j.chroma.2009.07.030.
75. Watson J.T., Sparkman O.D. Introduction to mass spectrometry: Instrumentation, applications, and strategies for data interpretation. 4th Edition. John Wiley & Sons, 2007. 841 p.
76. Self R., Eagles J., Galletti G.C., Mueller-Harvey I., Hartley R.D., Lea A.G.H., Magnolato D., Richli U., Gujer R., Haslam E. Fast atom bombardment mass spectrometry of polyphenols (syn. Vegetable tannins) // *Biomedical & Environmental Mass Spectrometry*. 1986. Vol. 13. N9. Pp. 449–468. DOI: 10.1002/bms.1200130902.
77. Okuda T., Nayeshiro H., Seno K. Structure of geraniin in the equilibrium state // *Tetrahedron Letters*. 1977. Vol. 18. N50. Pp. 4421–4424. DOI: 10.1016/S0040-4039(01)83525-5.
78. Okuda T., Hatano T., Nitta H., Fujii R. Hydrolysable tannins having enantiomeric dehydrohexahydroxydiphenoyl group: revised structure of terchebin and structure of granatin B // *Tetrahedron Letters*. 1980. Vol. 21. N45. Pp. 4361–4364. DOI: 10.1016/S0040-4039(00)77858-0.
79. Sutar R.C., Gangwar S.S., Thakur R.N., Sharma R., Krishnan S P. HPTLC finger printing analysis of the tannins from *Holoptelea integrifolia* (Roxb.) Planch Leaves // *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2016. N5(6). Pp. 199–204.
80. Harborne J.B. *Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Third edition, London: Chapman and Hall, 1998, 302 pp.
81. Wagner H, Baldt S. *Plant drug analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. Second Edition, Berlin: Springer; 1996, 384 pp. DOI: 10.1007/978-3-642-00574-9.
82. Grasel F.d.S., Ferrao M.F., Wolf C.R. Ultraviolet spectroscopy and chemometrics for the identification of vegetable tannins // *Industrial Crops and Products*. 2016. N91. Pp. 279–285. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.07.022.
83. Montoya L.F., Contreras D., Jaramillo A.F., Carrasco C., Fernández K., Schwederski B., Rojas D., Melendrez M.F. Study of anticorrosive coatings based on high and low molecular weight polyphenols extracted from the *Pine radiata* bark // *Progress in Organic Coating*. 2019. N127. Pp. 100–109. DOI: 10.1016/j.porgcoat.2018.11.010.
84. Matamala G., Smeltzer W., Drogue G. Use of Tannin Anticorrosive Reaction Primer to Improve Traditional Coating Systems // *Corrosion Science*. 1994. Vol. 50. N4. Pp. 271–275. DOI: 10.5006/1.3294333.
85. Xua W., Hana E-H., Wang Z. Effect of tannic acid on corrosion behavior of carbon steel in NaCl solution // *Journal of Materials Science & Technology*. 2019. N35. Pp. 64–75. DOI: 10.1016/j.jmst.2018.09.001.

86. Mazurek S., Fecka I., Węglińska M., Szostak R. Quantification of active ingredients in *Potentilla tormentilla* by Raman and infrared spectroscopy // *Talanta*. 2018. Vol. 189. Pp. 308–314. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.07.012.
87. Mignolet A., Wood B.R., Goormaghtigh E. Intracellular investigation on the differential effects of 4 polyphenols on MCF-7 breast cancer cells by Raman imaging // *The Royal Society of Chemistry*. 2018. N143. Pp. 258–269. DOI: 10.1039/C7AN01460K.
88. *British Pharmacopoeia. Health & Medicine*, 2017. Vol. IV. 15455 p.
89. *European Pharmacopoeia 9.0*. 2017. Vol. I. Pp. 1431–1436.
90. *United States Pharmacopoeia 40 – the National Formulary 35*, United Book Press, 2017. Vol. 1. 2389 p.
91. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Москва, 2018. URL: <http://www.femb.ru/feml>

Поступила в редакцию 15 апреля 2019 г.

Принята к публикации 27 мая 2019 г.

Для цитирования: Орлова А., Повыдыш М. Обзор методов качественного и количественного анализа танинов в растительном сырье // *Химия растительного сырья*. 2019. №4. С. 29–45. DOI: 10.14258/jcrpm.2019045459.

*Orlova A.**, *Povydysh M.* REVIEW OF METHODS FOR THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF TANNINS IN PLANT MATERIALS

St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, ul. Professora Popova, 14, St. Petersburg, 197022 (Russia), e-mail: anastasiya.lebedkova@spcpu.ru

Tannins are an extensive group of secondary metabolites widely used in medical practice and in human activities. They are characterized by a wide range of pharmacological activities, including antitumor, astringent, hemostatic, antioxidant and prooxidant, antimicrobial, antiviral, and others. The methods used for the chemical analysis of this group of compounds and for the standardization of tannin-containing types of plant materials have been improved with the development of analytical methods. Addressing the issues of standardization and application of hydrolysable and condensed tannins remain relevant today. This review reflects the main milestones in the historical development of tannin analysis: from using qualitative droplet reactions and physical properties, using the simplest physico-chemical analysis methods to establishing the structure of NMR spectroscopy, and from titrimetric methods using chemical and physico-chemical indicators to modern high-performance chromatography with various types of detectors, as well as the use of combinations of modern physicochemical methods of analysis with mathematical methods for assessing and predicting the qualitative and quantitative composition of tannins and their pharmacological effect. The main types of biological activity of hydrolysable and condensed tannins obtained from plant objects and their mechanisms of action are described.

Keywords: hydrolysable tannins, condensed tannins, qualitative analysis, quantitative analysis.

* Corresponding author.

References

1. Holness H. *Analytica Chimica Acta*, 1949, no. 3, pp. 290–294, DOI: 10.1016/s0003-2670(00)87343-2(1949).
2. Mejbaum-Katzenellenbogen W. *Acta Biochimica Polonica*, 1955, vol. 2, pp. 279–296.
3. Watkins P.E., White T. *Proceedings of the Second International Congress of Surface Activity*. London: Butterworths. 1957, pp. 183–196.
4. Spiers C.W. *The Journal Agricultural Science*, 1914, vol. 6, no. 1, pp. 77–83.
5. Howard B.J. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 1906, vol. 33, no. 11, pp. 567–576, DOI: 10.2307/2478934.
6. Lloyd F.E. *The Plant World*, 1911, vol. 14, no. 1, pp. 1–14.
7. Stitt R.E., Clarke I.D. *American Society of Agronomy*, 1941, no. 33, p. 739.
8. Kirby K.S., White T. *Biochem Journal*, 1955, no. 60(4), pp. 582–590.
9. Buchanan M.A., Lewis H.F., Kurth E.F. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 1944, no. 36(10), pp. 907–910.
10. Oshima Y. *Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 1936, no. 12(8), pp. 103–114, DOI: 10.1271/bbb1924.12.103.
11. Kirby K.S. *British Journal of Cancer*, 1960, no. 14(1), pp. 147–153.
12. Okuda T., Yoshida T., Hatano T. *Journal of Natural Products*, 1989, no. 52(1), pp. 1–31, DOI: 10.1021/np50061a001.
13. Ahmad P., Jaleel C.A., Salem M.A., Nabi G., Sharma S. *Critical Reviews of Biotechnology*, 2010, no. 30(3), pp. 161–175. DOI: 10.3109/07388550903524243.
14. Halliwell B. *Biochemistry Society Transaction*, 2007, no. 35(5), pp. 1147–1150, DOI: 10.1042/BST0351147.
15. Quideau S., Deffieux D., Douat-Casassus C., Pouységu L. *Angewandte Chemie International Edition*, 2011, no. 50, pp. 586–621, DOI: 10.1002/anie.201000044.
16. Leopoldini M., Russo N., Toscano M. *Food Chemistry Journal*, 2011, no. 125, pp. 288–306. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.08.012.
17. Pulido R., Bravo L., Saura-Calixto F. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 2000, no. 48, pp. 3396–3402. DOI: 10.1021/jf9913458.
18. Pfundstein B., El Desouky S.K., Hull W.E., Haubner R., Erben G., Owen R.W. *Phytochemistry*, 2010, no. 71, pp. 1132–1148. DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.03.018.
19. Wright J.S., Johnson E.R., DiLabio G.A. *Journal of the American Chemistry Society*, 2001, no. 123, pp. 1173–1183. DOI: 10.1021/ja002455u.
20. Galati G., O'Brien P.J. *Free Radical Biology & Medicine*, 2004, no. 37(3), pp. 287–303. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.04.034.
21. Badhani B., Sharma N., Kakkar R. *RSC Advances*, 2015, no. 5(35), pp. 27540–27557. DOI: 10.1039/c5ra01911g.
22. Naumann H.D., Tedeschi L.O., Zeller W.E., Huntley N.F. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2017, no. 46(12), pp. 929–949. DOI: 10.1590/s1806-92902017001200009.
23. Palanisamy U.D., Ling L.T., Manaharan T., Appleton D. *Food Chemistry*, 2011, no. 127, pp. 21–27. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.12.070.
24. Sergediené E., Jönsson K., Szymusiak H., Tyrakowska B., Rietjens I., Cénas N. *FEBS Letters*, 1999, no. 462, pp. 392–396. DOI: 10.1016/S0014-5793(99)01561-6.
25. Hada S., Hattori M., Namba T. *Journal of Medical Pharmaceutical Wakan Yaku Society*, 1989, no. 6, pp. 100–104.
26. Sakanaka S., Aizawa M., Kim M., Yamamoto T. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 1996, no. 60(5), pp. 745–749. DOI: 10.1271/bbb.60.745.
27. Balde' A.M., Claeys M., Pieters L., Wray V., Vlietinck A. *Planta Medica*, 1991, no. 57, suppl. 2, pp. A42–A43.
28. Balde' A.M. *Biological and Phytochemical Investigations on Three Plants Widely Used in Guinean Traditional Medicine: Ph.D. Thesis*, University of Antwerp, Belgium, 1990.
29. Balde' A.M., Van Hoof L., Pieters L.A., Vanden Berghe D.A., Vlietinck A.J. *Phytotherapy Research*, 1990, no. 45, pp. 182–188. DOI: 10.1002/ptr.2650040505.
30. Balde' A.M., Pieters L.A., Wray V., Kolodziej H., Vanden Berghe D.A., Claeys M., Vlietinck A.J. *Phytochemistry*, 1991, no. 30, pp. 4129–4135.
31. Ozaki Y., Okashi T., Minami A., Nakamura S. *American Society for Microbiology Journals*, 1987, no. 55, pp. 1436–1440.
32. Takechi M., Tanaka Y., Takehara M., Nonaka G.-I., Nishioka I. *Phytochemistry*, 1985, no. 24(10), pp. 2245–2250. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)83018-6.
33. Ubillas R., Jolad S., Bruening R., Kernan M., King S., Sesin D., Barrett M., Stoddart C., Flaster T., Kuo J., Ayala F., Meza E., Castanel M., McMeeke D., Rozhon E., Tempesta M., Barnard D., Huffman J., Smee D., Sidwell R., Soike K., Brazier A., Safrin S., Orlando R., Kenny P., Berova N., Nakanishi K. *Phytomedicine*, 1994, no. 1, pp. 77–106. DOI: 10.1016/S0944-7113(11)80026-7.
34. Kakiuchi N., Hattori M., Namba T. *Journal of Natural Products*, 1985, no. 48(4), pp. 614–621. DOI: 10.1021/np50040a016.
35. Kakiuchi N., Kusumoto I., Hattori M., Namba T., Hatano T., Okuda T. *Phytotherapy Research*, 1991, no. 5, pp. 270–272. DOI: 10.1002/ptr.2650050609.
36. Bruyne T.D., Pieters L., Deelstra H., Vlietinck A. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1999, no. 27(4), pp. 445–459. DOI: 10.1016/S0305-1978(98)00101-X.
37. Lim S.H., Darah I., Jain K. *Journal of Tropical Forest Science*, 2006, vol. 18, no. 1, pp. 59–65.

38. Mailoa M.N., Mahendradatta M., Laga A., Djide N. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 2014, vol. 3, no. 1, pp. 236–241.
39. Wagner H., Elbl G., Lotter H., Guinea M. *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, 1991, no. 1, pp. 15–18.
40. Hatano T., Edamatsu R., Hiramatsu M., Mori A., Fujita Y., Yashuhara T., Yoshida T., Okuda T. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1989, no. 37(8), pp. 2016–2021. DOI: 10.1248/cpb.37.2016.
41. Lesuisse M., Casteras-Simon M., Labbe P. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, no. 271(23), pp. 13578–13583. DOI: 10.1074/jbc.271.23.13578.
42. Ducrey B., Marston A., Gohring S., Hartmann R.W., Hostettmann K. *Pharmacology and Molecular Biology*, 1997, no. 63(2), pp. 111–114. DOI: 10.1055/s-2006-957624.
43. Kujawski M., Zhang C., Herrmann A., Reckamp K., Scuto A., Jensen M., Deng J., Forman S., Figlin R., Yu H. *Microenvironment and Immunology*, 2010, vol. 70, no. 23, pp. 9599–9610. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1293.
44. Granica S., Piwowarski J.P., Czerwinska M.E., Kiss A.K. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, no. 156, pp. 316–346. DOI: 10.1016/j.jep.2014.08.036.
45. Tits M., Angenot L., Damas J., Dierckxsens Y., Poukens P. *Planta Medica*, 1991, no. 57, p. A134.
46. Amanlou M., Dadkhah F., Salehnia A., Farsam H., Dehpour A.R. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences: a Publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe Canadienne des Sciences Pharmaceutiques*, 2005, no. 8(1), pp. 102–106.
47. Fawole O.A., Ndhlala A.R., Amoo S.O., Finnie J.F., Van Staden J. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, no. 123(2), pp. 237–243. DOI: 10.1016/j.jep.2009.03.012.
48. Scalbert A. *Plant polyphenols*, Plenum Press, New York, 1992, pp. 259–280.
49. Barbehenn R.V., Martin M.M., Hagerman A.E. *Journal of Chemistry Ecology*, 1996, no. 22(10), pp. 1901–1919. DOI: 10.1007/BF02028511.
50. Arapitsas P., Menichetti S., Vincieri F.F., Romani A. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 2007, no. 55, pp. 48–55. DOI: 10.1021/jf0622329.
51. Tuominen A. *Tannins and other polyphenols in Geranium sylvaticum: Identification, intraplant distribution and biological activity*, Turku, 2017, 241 p.
52. Buzuc G.N., Lovkova M.Y., Ershik O.A., Sokolova S.M. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2008, no. 421(1), pp. 211–213. DOI: 10.1134/s1607672908040121.
53. Chen X-X., Shi Y., Chai W-M., Feng H-L., Zhuang J.-X., Chen Q-X. *PLoS ONE*, 2014, no. 9(3), pp. 1–12. DOI: 10.1371/journal.pone.0091809.
54. Moilanen J., Sinkkonen J., Salminen J-P. *Chemoecology*, 2013, no. 23, pp. 165–179. DOI: 10.1007/s00049-013-0132-3.
55. Okuda T., Yoshida T., Hatano T., Ikeda Y., Shingu T., Inoue T. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1986, no. 34(10), pp. 4075–4082. DOI: 10.1248/cpb.34.4075.
56. Peng S., Jay-Allemand C. *Journal of Chemistry Ecology*, 1991, no. 17(5), pp. 887–896. DOI: 10.1007/BF01395597.
57. Moilanen J., Salminen J.-P. *Chemoecology*, 2008, no. 18, pp. 73–83. DOI: 10.1007/s00049-007-0395-7.
58. Karonen M., Loponen J., Ossipov V., Pihlaja K. *Analitica Chimica Acta*, 2004, vol. 522, no. 1, pp. 105–112. DOI: 10.1016/j.aca.2004.06.041.
59. Yanagida A., Shoji T., Shibusawa Y. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 2003, no. 56, pp. 311–322. DOI: 10.1016/S0165-022X(03)00068-X.
60. Skinner W.W. *Official and Tentative Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*, Minneapolis, 1936, p. 196.
61. Shaw. *Tannin Principles of Tea*, Madras: United Planters' Association of South India, 1930.
62. Bottger W. *Zeitschrift fur Physikalische Chemie*, 1938, no. 24, p. 293.
63. Barua D.N., Houghton Roberts E.A. *Biochem Journal*, 1940, no. 34(12), pp.1524–1531.
64. Petricie I., Poljak Baresie N. *Archiv der Pharmazie*, 1979, no. 10, pp. 689–691.
65. Yermakov A.I. *Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy*. [Methods of biochemical research of plants]. Leningrad, 1972, 456 p. (in Russ.).
66. Tyul'kova Yu.A., Ryazanova T.V., Kremenko O.N. *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*, 2014, no. 7, pp. 298–305. (in Russ.).
67. Grin'ko Ye.N. *Farmatsiya*, 2010, no. 5, pp. 49–53. (in Russ.).
68. Hase T. *Tables for organic spectrometry. 8th edition*, Otatieta, Helsinki, 1999, pp. 20–39.
69. Kaur H. *Spectroscopy*, Meerut: Pragati Prakashan, 2009, pp. 258–321.
70. Santos-Buelga C., García-Viguera C., Tomás-Barberán F.A. *Methods in polyphenol analysis*, Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2003, pp. 92–127.
71. Loponen E., Pihlaja K. *Journal of Chromatography A*, 1999, vol. 864, no. 2, pp. 283–291. DOI: 10.1016/S0021-9673(99)01036-5.
72. Akdemir Z.Ş., Tath İ.İ., Saracoğlu İ., İsmailoğlu U.B., Şahin-Erdemli İ., Caliş İ. *Phytochemistry*, 2001, vol. 56, no. 2, pp. 189–193. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)00367-8.
73. Karonen M., Liimatainen J., Sinkkonen J. *Journal of Separation Science*, 2011, vol. 34, no. 22, pp. 3158–3165. DOI: 10.1002/jssc.201100569.
74. Valls J., Millán S., Martí M.P., Borràs E., Arola L. *Journal of Chromatography A*, 2009, vol. 1216, no. 43, pp. 7143–7172. DOI: 10.1016/j.chroma.2009.07.030.

75. Watson J.T., Sparkman O.D. *Introduction to mass spectrometry: Instrumentation, applications, and strategies for data interpretation. 4th Edition*, John Wiley & Sons, 2007, 841 p.
76. Self R., Eagles J., Galletti G.C., Mueller-Harvey I., Hartley R.D., Lea A.G.H., Magnolato D., Richli U., Gujer R., Haslam E. *Biomedical & Environmental Mass Spectrometry*, 1986, vol. 13, no. 9, pp. 449–468. DOI: 10.1002/bms.1200130902.
77. Okuda T., Nayeshiro H., Seno K. *Tetrahedron Letters*, 1977, vol. 18, no. 50, pp. 4421–4424. DOI: 10.1016/S0040-4039(01)83525-5.
78. Okuda T., Hatano T., Nitta H., Fujii R. *Tetrahedron Letters*, 1980, vol. 21, no. 45, pp. 4361–4364. DOI: 10.1016/S0040-4039(00)77858-0.
79. Sutar R.C., Gangwar S.S., Thakur R.N., Sharma R., Krishnan S P. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2016, no. 5(6), pp. 199–204.
80. Harborne J.B. *Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Third edition, London: Chapman and Hall, 1998, 302 pp.
81. Wagner H, Baldt S. *Plant drug analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. Second Edition, Berlin: Springer; 1996, 384 pp. DOI: 10.1007/978-3-642-00574-9.
82. Grasel F.d.S., Ferrao M.F., Wolf C.R. *Industrial Crops and Products*, 2016, no. 91, pp. 279–285. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.07.022.
83. Montoya L.F., Contreras D., Jaramillo A.F., Carrasco C., Fernández K., Schwederski B., Rojas D., Melendrez M.F. *Progress in Organic Coating*, 2019, no. 127, pp. 100–109. DOI: 10.1016/j.porgcoat.2018.11.010.
84. Matamala G., Smeltzer W., Droggett G. *Corrosion Science*, 1994, vol. 50, no. 4, pp. 271–275. DOI: 10.5006/1.3294333.
85. Xua W., Hana E-H., Wang Z. *Journal of Materials Science & Technology*, 2019, no. 35, pp. 64–75. DOI: 10.1016/j.jmst.2018.09.001.
86. Mazurek S., Fecka I., Węglińska M., Szostak R. *Talanta*, 2018, vol. 189, pp. 308–314. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.07.012.
87. Mignolet A., Wood B.R., Goormaghtigh E. *The Royal Society of Chemistry*, 2018, no. 143, pp. 258–269. DOI: 10.1039/C7AN01460K.
88. *British Pharmacopoeia*, Health & Medicine, 2017, vol. IV, 15455 p.
89. *European Pharmacopoeia 9.0*, 2017, vol. I, pp. 1431–1436.
90. *United States Pharmacopoeia 40 – the National Formulary 35*, United Book Press, 2017, vol. 1, 2389 p.
91. *Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdaniye*. [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition]. Moscow, 2018. URL: <http://www.femb.ru/feml> (in Russ.).

Received April 15, 2019

Accepted May 27, 2019

For citing: Orlova A., Povydysh M. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 4, pp. 29–45. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2019045459.

