

УДК 582.998 1 : 615.32

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-3-143-150

Малютина А.Ю.,
Шестопалова Н.Н.

**ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА
ПОЛИСАХАРИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ
ACHYROPHORUS MACULATUS L.
ФЛОРЫ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ**

Малютина Анастасия Юрьевна, старший преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, кандидат фармацевтических наук

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)

ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия

E-mail: malyutina_a@bsu.edu.ru

Шестопалова Наталья Николаевна, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)

ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия

E-mail: shestopalova@bsu.edu.ru

АННОТАЦИЯ

Прозанник крапчатый (*Achyrophorus maculatus* L.) – двулетнее травянистое растение семейства астровых (*Asteraceae*), распространенное преимущественно в европейской части России и в южных районах Сибири. В традиционной медицине трава растения применяется как противовоспалительное, антисептическое, ранозаживляющее, противоопухолевое средство, а также при болезнях кожи. В статье приведены результаты исследований полисахаридного комплекса, полученного из травы *Achyrophorus maculatus* L. флоры Тульской области. Выделены водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлозы А и Б, исследован их моносахаридный состав методом бумажной хроматографии и денситометрии. Количественно определены функциональные группы пектиновых веществ.

Ключевые слова: *Asteraceae*; *Achyrophorus maculatus* L.; полисахаридный комплекс.

UDC 582.998 1 : 615.32

DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-3-143-150

*Malyutina A.Yu.,
Shestopalova N. N.*

**INVESTIGATION OF ACHYROPHORUS
MACULATUS L. POLYSACCHARIDE
COMPLEX COMPOSITION OF THE
FLORA OF TULA REGION**

Malyutina Anastasia Yurievna

PhD in Pharmacy, Senior Lecturer

Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy

Belgorod State National Research University

85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

E-mail: malyutina_a@bsu.edu.ru

Shestopalova Natalia Nikolaevna

PhD in Agricultural Sciences, Associate Professor

Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy

Belgorod State National Research University

85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

E-mail: shestopalova@bsu.edu.ru

АБСТРАКТ

Achyrophorus maculatus L. is a biennial herb of the Asteraceae family, which is widespread mainly in the European part of Russia and southern Siberia. In traditional medicine, Achyrophorus maculatus L. herb is used as anti-inflammatory, antiseptic, wound healing, antitumor agent, and in treatment of skin diseases. The article presents the results of studies of the polysaccharide complex obtained from Achyrophorus maculatus L. herb of the flora of Tula Region. The authors have allocated water-soluble polysaccharides, pectin, hemicellulose A and B and investigated their monosaccharide composition with the method of paper chromatography and densitometry. The functional groups of pectins have been quantified.

Keywords: Asteraceae; Achyrophorus maculatus L.; polysaccharide complex.

Введение. Достаточно давно известны обволакивающие и смягчительные свойства полисахаридов [9]. Фитопрепараты на их основе применяют в качестве отхаркивающих и противовоспалительных средств [15]. Некоторые полисахариды оказались эффективными антиульцерогенными агентами, перспективными для применения в терапии язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки [8]. Многие исследователи связывают иммуномодулирующие свойства растений и фитопрепаратов на их основе с полисахаридами [12, 15].

Муравьевой Т.И. установлена перспективность использования водорастворимых полисахаридов в качестве фармакосанирующих лекарственных средств, благодаря наличию выраженных антигипоксического, антиоксидантного, гепатопротекторного и радиопротекторного эффектов [4].

Известна их противоопухолевая активность [8, 11, 14], а также способность восстанавливать работоспособность, что активно используется в спортивной медицине [6, 8, 13, 14].

Все это обуславливает необходимость установления качественного состава и количественного содержания полисахаридных комплексов в растительном сырье.

Цель исследования – изучение компонентного полисахаридного состава травы прозанника крапчатого (*Achyrophorus maculatus L.*) флоры Тульской области.

Материалы и методы. Объектом исследования служила воздушно-сухая измельченная трава *Achyrophorus maculatus L.*, заготовленная в 2015 г. на территории Тульской области в период массового цветения растений.

Полисахариды из лекарственного растительного сырья выделяли по методу Н.К. Кочеткова фракциями: водорастворимый полисахаридный комплекс (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ), гемицеллюлоза А и Б (ГЦ А и ГЦ Б).

Для получения водорастворимого полисахаридного комплекса использовали воздушно-сухой шрот сырья прозанника крапчатого после выделения фенольных соединений [3, 5].

Полученный шрот (50,0 г) экстрагировали горячей водой очищенной в соотношении 1:20 при нагревании до 95°C в течение 2 часов при постоянном перемешивании. Повторное извлечение полисахаридов проводили дважды в соотношении 1:10 в течение часа. Растительный материал отделяли центрифугированием, а объединенные экстракты упаривали до 1/5 первоначального объема.

С целью дополнительной очистки от фенольных соединений водное извлечение пропускали через слой полиамидного сорбента высотой 50 мм на воронке Бюхнера диаметром 300 мм. Сорбент промывали небольшими порциями воды очищенной, которые присоединяли к основной массе элюата. После этого полисахариды осаждали трехкратным объемом спирта этилового 96 % при комнатной температуре. Выпавший плотный осадок полисахаридов отфильтровывали, промывали спиртом этиловым 96 % и высушивали.

Для получения пектиновых веществ использовали шрот сырья, оставшийся после выделения водорастворимого полисахаридного комплекса. Экстракцию проводили смесью 0,5 % растворов кислоты щавелевой и аммония оксалата (1:1) при соотношении сырье-экстрагент 1:20 при 80-85°C в течение 2,5 часов. Повторное извлечение проводили дважды в соотношении 1:10. Экстракты концентрировали, диализовали и осаждали спиртом этиловым 96 % (1:5). Выпавший осадок пектиновых веществ отфильтровывали, промывали спиртом этиловым 96 % и высушивали [5].

Шрот сырья, оставшийся после выделения пектиновых веществ, использовали для получения гемицеллюлозы А и Б. Для этого его заливали пятикратным объемом 10 % водного раствора натрия гидроксида и оставляли при комнатной температуре на 12 часов. Затем процеживали через четыре слоя марли. К полученному фильтрату прибавляли два объема кислоты уксусной. Образовавшийся осадок отфильтровывали. На фильтре получился осадок гемицеллюлозы А. К фильтрату добавляли двукратный объем спирта этилового 96 % для осаждения гемицеллюло-

зы Б. Полученный осадок отфильтровывали, промывали спиртом этиловым 96 %, высушивали [1, 5].

Кислотный гидролиз для определения моносахаридного состава водорастворимого полисахаридного комплекса, пектиновых веществ и гемицеллюлозы А и Б проводили кислотой серной (1 моль/л) [10]. Эта минеральная кислота вызывает наименьшую деструкцию полисахаридов и легко удаляется из реакционной смеси, что обуславливает ее использование. Хроматографическое изучение нейтральных моносахаридов проводили методом нисходящей хроматографии в системе н-бутанол – пиридин – вода очищенная (6:4:3) [7], а для изучения кислых моносахаридов – восходящую хроматографию в системе: этилацетат – кислота уксусная – кислота муравьиная – вода очищенная (18:3:1:4) [1] параллельно с достоверными образцами. Хроматограммы после высушивания на воздухе обрабатывали анилинфталатным реактивом и нагревали в сушильном шкафу при температуре 100-105°C; моносахариды проявлялись в виде красновато-коричневых пятен.

Определение количественного содержания сахаров в гидролизатах полисахаридов проводили денситометрически после хроматографии в тонком слое сорбента [5]. Количественное определение функциональных групп пектиновых веществ (свободных карбоксильных, метоксилированных карбоксильных, общее количество карбоксильных, а также содержание метоксилированных групп) проводили титрометрическим методом [2].

Результаты исследования и их обсуждение. В результате исследований из травы были выделены водорастворимый полисахаридный комплекс, пектиновые вещества, гемицеллюлоза А и Б.

Выход водорастворимого полисахаридного комплекса из травы *Achyrophorus maculatus L.* флоры Тульской области составил 7,53 %. ВРПС представляет собой аморфный порошок светло-серого цвета; при

растворении в воде образует опалесцирующий раствор (рН 1 % водного раствора находится в пределах 5-6); растворяется также в водных растворах кислот и щелочей и не растворяется в органических растворителях. Полисахаридный комплекс дает положительные реакции осаждения со спиртом, ацетоном, реакцию Фелинга после кислотного расщепления [5].

Выход пектиновых веществ составляет 14,35 %. Выделенные пектиновые вещества из травы прозанника крапчатого представляли собой аморфный порошок светло-кремового цвета, хорошо растворимый в воде с образованием вязкого раствора (рН 1% водного раствора находится в пределах 3-4). Водный раствор пектиновых веществ осаждался 1 % раствором алюминия сульфата с образованием пектатов [5].

Выход гемицеллюлозы А из травы прозанника крапчатого составил 9,26 %, гемицеллюлозы Б – 8,49 %.

Хроматографически в гидролизате водорастворимого полисахаридного комплекса из травы прозанника крапчатого обнаружили 5 веществ. С достоверными образцами идентифицировали: галактозу, арабинозу, ксилозу, рамнозу и глюкуроновую кислоту.

В гидролизате исследуемых пектиновых веществ обнаружили 4 соединения. С достоверными образцами идентифицировали: глюкозу, ксилозу, рамнозу и галактуроновую кислоту.

В гидролизатах исследуемых гемицеллюлоз А и Б обнаружили 2 и 4 вещества соответственно. С достоверными образцами в гемицеллюлозе А идентифицировали глюкозу и ксилозу, в гемицеллюлозе Б – галактозу, глюкозу, арабинозу и ксилозу.

Согласно полученным результатам (таблица 1) в водорастворимом полисахаридном комплексе преобладают арабиноза (6,4 %) и галактоза (7,6 %). Основу пектиновых веществ составляет галактуроновая кислота – 86,2 %. В гемицеллюлозах А и Б преобладающим моносахаридом является ксилоза – 6,7 % и 6,5 % соответственно.

Таблица 1

**Характеристика полисахаридов, выделенных из травы
Achyrophorus maculatus L. флоры Тульской области**

Table 1

**The characteristic of polysaccharides isolated from the *Achyrophorus maculatus* L.
herb of the flora of Tula Region**

Моносахаридный состав, %		
Водорастворимый полисахаридный комплекс	арабиноза	6,4
	галактоза	7,6
	ксилоза	0,5
	рамноза	0,4
	глюкуроновая кислота	2,8
Пектиновые вещества	глюкоза	2,1
	ксилоза	2,6
	рамноза	0,1
	галактуроновая кислота	86,2
Гемицеллюлоза А	глюкоза	5,5
	ксилоза	6,7
Гемицеллюлоза Б	арабиноза	1,8
	галактоза	2,3
	ксилоза	6,5
	глюкоза	1,9

Таблица 2

**Содержание функциональных групп в пектиновых веществах,
выделенных из травы *Achyrophorus maculatus* L. флоры Тульской области**

Table 2

**The content of the pectin functional groups isolated from the
Achyrophorus maculatus L. herb of the flora of Tula Region**

Функциональные группы	Содержание, %
Свободные карбоксильные группы (Кс)	11,31
Метоксилированные карбоксильные группы (Км)	1,42
Общее количество карбоксильных групп (Ко)	12,73
Метоксильные группы (ОСН ₃)	0,89
Степень метоксилированности (λ)	11,15

Из данных таблицы 2 следует, что содержание свободных карбоксильных групп в исследуемых пектиновых веществах составляет 11,31 %, метоксилированных карбоксильных групп – 1,42 %, метоксильных групп – 0,89 %. Пектиновые вещества характеризуются невысокой ($\lambda < 50\%$) степенью метоксилированности, что дает возможность использования их в медицинской практике в качестве детоксикантов и в фармацевтической практике при производстве лекарственных препаратов в качестве желирующих агентов.

Выводы:

1. Углеводные комплексы травы *Achyro-
phorus maculatus L.* флоры Тульской области представлены ВРПС, ПВ, ГЦ. Преобладающими веществами являются ПВ и ГЦ.
2. Установлен качественный и количественный моносахаридный состав исследуемых полисахаридов. Пектиновые вещества характеризуются невысокой ($\lambda < 50\%$) степенью метоксилированности.
3. Высокое содержание полисахаридов в сырье говорит о перспективности использования травы *Achyro-
phorus maculatus L.* флоры Тульской области в качестве источника ВРПС и ПВ.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бубенчикова В.Н., Старчак Ю.А. Изучение веществ первичного биосинтеза травы тимьяна блошиного (*Thymus pulegioides* L.) // Современ. проблемы науки и образования (Электронный ресурс). 2012. № 3. Режим доступа: <http://www.science-education.ru/103-6445>. (дата доступа 02.08.2015)
2. Бубенчикова В.Н., Прохорова С.А. Изучение пектиновых веществ козлобородника восточного (*Tragopogon orientalis* L.) // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. Пятигорск. 2010. Вып. 65. С. 17-18.
3. Бубенчикова В.Н. Булатникова Ж.А. Изучение полисахаридного и минерального состава герани луговой (*Geranium pratense* L.) // Физическое и духовное здоровье: традиции и инновации: сб. науч. тр. междунар. конгр. 2011. С. 166-168.
4. Гребнева Н.Ю., Лесиовская Е.Е., Харитоновна Н.П. Некоторые фармакологические свойства водных извлечений растительного сбора «Полестелл» для лечения легочных заболеваний // Раст. ресурсы. 1999. Т. 35, вып. 3. С. 25-34.
5. Дроздова И.Л., Денисова Н.Н. Анализ полисахаридного состава травы короставника полевого флоры Центрального Черноземья // Науч. ведомости БелГУ. Сер. «Медицина. Фармация». 2011. № 4 (99), вып. 13/2. С. 161-164.
6. Основные свойства новых недопинговых препаратов, рекомендованных для применения в спортивной медицине для повышения спортивной работоспособности и ускорения процессов восстановления спортсменов : клинические исследования в 2000-2003 гг. : метод. рекомендации / Р.Д. Сейфулла, З.Г. Орджоникидзе, В.Н. Санинский [и др.]. М., 2003. 72 с.
7. Пектиновые полисахариды рябины обыкновенной *Sorbus aucuparia* L. / А.А. Злобин, Е.А. Мартинсон, С.Г. Литвинец [и др.] // Химия растительного сырья. 2011. № 1. С. 39-44.
8. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств / Н.А. Криштанова, М.Ю. Сафонова, В.Ц. Болотова [и др.] // Вестн. ВГУ. Сер. «Химия. Биология. Фармация». 2005. № 1. С. 212-221.
9. Пилат Т.Л., Иванов А.А. Биологически активные добавки к пище (теория, производство, применение). М.: Авваллон, 2002. 710 с.
10. Химический состав некоторых перспективных видов флоры Сибири и возможности их практического использования / Е.А. Краснов, Я.В. Горина, И.П. Каминский, Т.В. Кадырова // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы IV Всерос. конф. (Барнаул, 21-23 апр. 2009 г.). Барнаул, 2009. Кн. 2. С. 181-182.
11. Characterization and anti-tumor activities of sulfated polysaccharide SRBPS2a obtained from defatted rice bran / L. Wang, Y. Huang, Y. Wei [et al.] // Int. J. Biol. Macromol. 2009. Vol. 45. P. 427-431.
12. Immunoregulatory and anti-tumor effects of polysaccharopeptide and *Astragalus* polysaccharides on tumor-bearing mice / J. Li, Y. Bao, W. Law [et al.] // Immunopharmacol. Immunotoxicol. 2008. Vol. 30. P. 771-782.
13. Li, X. Analysis of chemical components of shiitake polysaccharides and its anti-fatigue effect under vibration / X. Li, H. Zhang, H. Xu // Int. J. Biol. Macromol. 2009. Vol. 45. P. 377-380.
14. Rapid determination of polysaccharides in *Bian Ti* Soft Extract by spectrophotometry coupled with gas chromatography-mass spectrometry / M. Zheng, J. Shen, K. Yang [et al.] // Pharmacogn. Mag. 2010. Vol. 6, N 22. P. 106-110.
15. Shi, L. Isolation, purification, and immunomodulatory activity in vitro of three polysaccharides from roots of *Cudrania tricuspidata* / L. Shi, Y. Fu // Acta Biochim. Biophys. Sin. 2011. Vol. 43, Is. 5. P. 418-424.

REFERENCES:

1. Bubenchikova V.N., Starchak Yu.A. The Study of Primary Substances Biosynthesis of *Thymus Pulegioides* L. Herb. Modern Problems of Science and Education (electronic resource). № 3. 2012. Access: <http://www.science-education.ru/103-6445>. (02.08.2015)
2. Bubenchikova V.N., Prokhorov S.A. The Study of *Tragopogon Orientalis* L. Pectins. Development, Research and Marketing of New Pharmaceutical Products: Collection of Scientific Papers. Pyatigorsk. Vol. 65. 2010: Pp. 17-18.
3. Bubenchikova V.N., Bulatnikova J.A. The Study of Polysaccharide and Mineral Composition of *Geranium Pratense* L. Physical and Mental Health: Traditions and Innovations: Collection of Scientific Papers. 2011: Pp. 166-168.
4. Grebneva N.Yu., Lesiovskaya E.E., Kharitonov N.P. Some Pharmacological Properties of Aqueous Extracts of Plant Collecting "Po-lestell" for the Treatment of Lung Diseases. Plant Resources. T.35, №3. 1999: Pp. 25-34.
5. Drozdova I.L., Denisova N.N. Analysis of the Polysaccharide Composition of the *Knautia Arvensis* Herb of the Flora of the Central Black Soil Region. Sci. BSU statements. Ser. "Medicine. Pharmacy". № 4 (99), vol. 13/2. 2011: Pp. 161-164.
6. The Basic Properties of New Non-dope Drugs Recommended for Use in Sports Medicine to Enhance Athletic Performance and Accelerate the Recovery of Athletes: Clinical Research in 2000-2003. : Method. Recommendations / R.D. Seyfulla, Z.G. Ordzhonikidze, V.N. Saninsky [et al.]. M., 2003. 72 p.
7. Pectin Polysaccharides of *Sorbus Aucuparia* L. / A.A. Zlobin, E.A. Martinson, S.G. Litvinets [et al.]. Chemistry of plant raw materials. № 1. 2011: Pp. 39-44.
8. Prospects for the Use of Plant Polysaccharides as Therapeutic and Preventive Agents / N.A. Krishtanova, M.Yu. Safonov, V.Ts. Bolo-tov [et al.] // Vestnik. VSU. Ser. "Chemistry. Biology. Pharmacy". № 1. 2005: Pp. 212-221.
9. Pilate, T.L., Ivanov A.A. Biologically Active Food Supplements (Theory, Production, Application). M.: Avvallon, 2002. 710 p.
10. The chemical Composition of Some of the Promising Species of the Flora of Siberia and the Possibilities of their Practical Use / E.A. Krasnov, Yu.V. Gorin, I.P. Kaminsky, T.V. Kadyrov. Advances in Chemistry and Chemical Technology of Vegetable Raw Materials: Materials of the IV All-Russia. Conf. (Barnaul, 21-23 April. 2009). Barnaul. B. 2. 2009: Pp. 181-182.
11. Characterization and Anti-tumor Activities of Sulfated Polysaccharide SRBPS2a obtained from defatted rice bran / L. Wang, Y. Huang, Y. Wei [et al.]. Int. J. Biol. Macromol. Vol. 45. 2009: Pp. 427-431.
12. Immunoregulatory and anti-tumor effects of polysaccharopeptide and *Astragalus* polysaccharides on tumor-bearing mice / J. Li, Y. Bao, W. Law [et al.]. Immunopharmacol. Immunotoxicol. Vol. 30. 2008: Pp. 771-782.
13. Li, X. Analysis of chemical components of shiitake polysaccharides and its anti-fatigue effect under vibration / X. Li, H. Zhang, H. Xu. Int. J. Biol. Macromol. Vol. 45. 2009: Pp. 377-380.
14. Rapid determination of polysaccharides in *Bian Ti* Soft Extract by spectrophotometry coupled with gas chromatography-mass spectrometry / M. Zheng, J. Shen, K. Yang [et al.]. Pharmacogn. Mag. Vol. 6, № 22. 2010: Pp. 106-110.
15. Shi, L., Fu, Y. Isolation, purification, and immunomodulatory activity in vitro of three polysaccharides from roots of *Cudrania tricuspidata*. Acta Biochim. Biophys. Sin. Vol. 43, Is. 5. 2011: Pp. 418-424.