

УДК 616.36-002:615.322

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИСАХАРИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЧЕРТОПОЛОХА КУРЧАВОГО

Юдина Ю.В., Гладух Е.В., Грубник И.М., Омирбаева А.Е.¹, Датхаев У.М.¹

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

¹ Казахский национальный медицинский университет им.

С.Д. Асфендиярова, г. Алматы, Республика Казахстан

Введение. Несмотря на успехи в области создания синтетических лекарственных средств, в настоящее время большое внимание уделяется разработке и внедрению в практику здравоохранения эффективных и малотоксичных лекарственных средств на основе лекарственного растительного сырья. Для расширения сырьевой базы и создания эффективных оригинальных препаратов необходимо проводить поиск новых сырьевых источников лекарственных растений, расширять изучение природных биологически активных веществ. Чертополох курчавый, произрастающий в Республике Казахстан, является перспективным источником получения препаратов, обладающих противовоспалительной и гепатопротекторной активностью [1,2,3,4].

Цель исследования. Целью данного исследования является изучение полисахаридных комплексов травы чертополоха курчавого, произрастающего на территории Республики Казахстан.

Методы исследования. Из сырья выделяли фракции полисахаридов: водорастворимые (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ) и гемицеллюлозы А (ГЦ А) и Б (ГЦ Б). Изучение фракционного состава полисахаридов проводили по следующей методике.

100 г воздушносухого сырья экстрагировали 2 л горячей воды при нагревании до 95°C в течение 1 ч при постоянном перемешивании. Повторное извлечение проводили в соотношении сырье – экстрагент 1:10. Полученные извлечения объединяли и упаривали до 1/5 первоначального объема. Полисахариды осаждали трехкратным объемом 96% этанола при комнатной температуре. Выпавшие осадки отфильтровывали, последовательно промывали 96% этанолом, ацетоном, эфиром, высушивали и взвешивали. Получали фракцию ВРПС.

Из шрота, оставшегося после получения ВРПС, выделяли ПВ. Экстракцию сырья проводили дважды смесью 0,5% растворов кислоты щавелевой и аммония оксалата (1:1) в соотношении сырье – экстрагент 1:20 при температуре 80-85°C в течение 2 ч. Полученные извлечения объединяли, концентрировали и осаждали пятикратным объемом 96% этанола. Полученные осадки отфильтровывали, промывали этанолом, высушивали и взвешивали. Получали фракции ПВ.

Из шрота, оставшегося после получения ВРПС и ПВ, выделяли ГЦ. Экстракцию проводили дважды 7% раствором натрия гидроксида в соотношении сырье – экстрагент 1:5 при комнатной температуре в течение 12 ч. Щелочные извлечения объединяли и подкисляли кислотой уксусной ледяной до выпадения

осадка гемицеллюлозы А. Осадок отфильтровывали, промывали 96% этанолом, высушивали и взвешивали. К полученному фильтрату добавляли двукратный объем 96% этанола. Образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали 96% этанолом, высушивали и взвешивали. Получали фракции ГЦ Б.

Основные результаты. Результаты изучения фракционного состава полисахаридов растения чертополох курчавый представлены в таблице 1

Таблица 1

Результаты определения содержания фракционного состава полисахаридов в растении чертополох курчавый

Объект исследования	Количественное содержание, %			
	ВРПС	ПВ	ГЦ А	ГЦ Б
Трава чертополоха курчавого	0,13±0,12	0,08±0,11	0,78±0,09	0,51±0,07

Количественное содержание суммы водорастворимых полисахаридов определяли гравиметрическим методом по нижеприведенной методике.

20 г измельченного сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, заливали 200 мл воды, колбу соединяли с обратными холодильниками и кипятили при перемешивании в течение 30 мин. Экстракцию проводили дважды, используя первый раз 200 мл, второй раз 100 мл воды. Водные извлечения объединяли, центрифугировали и декантировали в мерную колбу вместимостью 500 мл через 5 слоев марли, вложенной в стеклянную воронку диаметром 55 мм и предварительно промытую водой. Фильтр промывали водой и доводили объем раствора водой до метки (раствор А).

25 мл раствора А переносили в центрифужную пробирку, добавляли 75 мл 95% этанола, перемешивали, подогревали на водяной бане до 30°C в течение 5 мин. Через 1 ч содержимое пробирки центрифугировали с частотой вращения 5000 об/мин в течение 30 мин. Надосадочную жидкость отфильтровывали под вакуумом при остаточном давлении 13-16 кПа через высушенный до постоянной массы при температуре 100-105°C стеклянный фильтр ПОР-16 диаметром 40 мм. Осадок количественно переносили на фильтр, последовательно промывали 15 мл смеси 95% этанола и воды (3:1), 10 мл ацетона и 10 мл этилацетата. Фильтр с осадком высушивали на воздухе, а затем при температуре 100-105°C до постоянной массы.

Содержание суммы водорастворимых полисахаридов в пересчете на абсолютно сухое сырье (X, %) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) * 500 * 100 * 100}{m * 25 * (100 - W)},$$

где m_1 – масса фильтра, г;

m_2 – масса фильтра с осадком, г;

m – масса сырья, г;

W – потеря в массе при высушивании, % [1].

В результате проведенных исследований было установлено, что количественное содержание водорастворимых полисахаридов в растении чертополох курчавый составляет $4,44 \pm 0,9\%$.

Изучение моносахаридного состава полученных полисахаридных комплексов проводили методом тонкослойной хроматографии. Для этого по 0,1 г полисахаридных комплексов растворяли в минимальном объеме воды (1,5-2 мл) и гидролизовали таким же объемом 20% раствора кислоты серной при нагревании на водяной бане, контролируя ход гидролиза хроматографически. Полный гидролиз проходил за 5 час. Гидролизаты нейтрализовали бария карбонатом до нейтральной реакции по универсальному индикатору. Растворы отфильтровывали, промывали фильтры и осадки водой. Фильтраты упаривали под вакуумом досуха и растворяли в 0,5 мл этанола. Полученные растворы наносили на хроматографическую бумагу «Сорбфил» и хроматографировали в системе растворителей ацетон – *n*-бутанол – вода (7:2:1) нисходящим способом в присутствии достоверных образцов моносахаридов. Хроматограммы высушивали на воздухе, обрабатывали реактивом анилинфосфорной кислоты и нагревали в сушильном шкафу в течение 10 мин при 100°C. На хроматограммах были обнаружены пятна коричневого цвета на уровне пятна образца-свидетеля ксилозы, пятна оранжевого цвета на уровне стандарта глюкозы, а также пятно на уровне стандарта галактозы и дополнительное пятно ниже пятна на уровне стандарта ксилозы (Рис. 1)

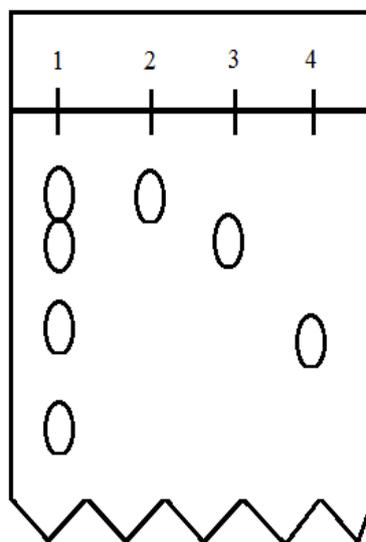


Рис. 1 Схема хроматограммы изучения моносахаридного состава полисахаридных комплексов из растения чертополох курчавый: 1 – гидролизат полисахарида из растения, 2 – галактоза, 3 – глюкоза, 4 – ксилоза.

Выводы. Из травы чертополоха курчавого гравиметрическим методом были получены полисахаридные комплексы и изучен их качественный состав. В

результате было установлено наличие моносахаридов: глюкозы, галактозы, ксилозы. Было установлено, что количественное содержание водорастворимых полисахаридов в траве чертополоха курчавого составляет $4,44 \pm 0,9\%$. Было проведено изучение фракционного состава полисахаридов, были выделены фракции водорастворимых полисахаридов (ВРПС), пектиновых веществ (ПВ), гемицеллюлозы А (ГЦ А) и гемицеллюлозы Б (ГЦ Б) и определено их количественное содержание.

Список литературы

1. Омирбаева А.Е., Датхаев У.М., Юдина Ю.В. Перспективы применения растений семейства чертополох при создании лекарственных препаратов / Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Пріоритети сучасної медицини: теорія і практика» 6-7 лютого 2015р м. Одеса.
2. Омирбаева А.Е., Датхаев У.М., Юдина Ю.В. Перспективы применения чертополоха курчавого в косметической практике/ Сборник тезисов IX Всеукраинской научно практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы косметологии и дерматологии» 23-24 апреля 2015
3. Омирбаева А.Е. Изучение антимикробной активности экстрактов чертополоха курчавого // А. Е. Омирбаева, У.М. Датхаев, Ю.В. Юдина, Е. В. Гладух, О.П. Стрилец, Л.С. Стрельников // Вестник Южно-казахстанской государственной фармацевтической академии, 2(71), 2015, с. 52-55
4. Omirbayeva A.E. Development of carduus crispus dense extract // Datkhayev U.M. Gladukh Ie. V. Iudina Iu. V. Bevz N. Yu. Makhatov B.K. Orynbassarova K.K. / Pharmacology, Pharmaceutical Technology and Pharmacotherapy in Active longevity II International Scientific Conference, November 12, 2015 Vilnius, 2015