

ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІСАХАРИДІВ ТА ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ ТРАВИ КУНИЧНИКА ЗВИЧАЙНОГО ТА ЩУЧНИКА ДЕРНИСТОГО

Бурлака І.С., Кисличенко В.С., Поздняков В.В.

Національний фармацевтичний університет

Вступ. Об'єктами наших досліджень було обрано траву кунічника звичайного - *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth., який відноситься до роду *Calamagrostis* Adans. і траву щучника дернистого - *Deschampsia caespitosa* (L.) Beauv., який відноситься до роду щучник *Deschampsia* Webb. Et Bernth. Слід зазначити, що однією з основних груп біологічно активних речовин рослин родини Poaceae є полісахариди, які виявляють різносторонні види фармакологічної активності, а саме відхаркувальну, протизапальну, імуностимулюючу. Більшість органічних кислот є нормальними складовими обміну речовин людини і після всмоктування практично повністю утилізуються в енергетичному обміні, не змінюючи при цьому кислотно-лужний баланс організму. Застосування фітопрепаратів актуально не тільки в комплексі лікувальних заходів, але й для профілактики ускладнень фармакотерапії [1,2,3].

Мета та завдання досліджень. Метою нашої роботи було дослідження полісахаридних комплексів і органічних кислот трави кунічника звичайного і щучника дернистого. Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

- одержати полісахаридні фракції з лікарської рослинної сировини;
- визначити моносахаридний склад полісахаридних фракцій і органічних кислот та їх кількісний вміст.

Матеріал і методи. Об'єктом дослідження були повітряно-суха подрібнена трава щучника дернистого та трава кунічника звичайного, які було заготовлено в 2010 році на луках Харківської області в період масового цвітіння рослин.

Для видалення полісахаридних сполук повітряно-суху сировину двох рослин подрібнювали до розміру частинок, які проходять крізь сито з діаметром отворів 5 мм. По 50 г сировини вичерпно екстрагували хлороформом в апараті Сокслета для видалення ліпофільних фракцій. Сировину висушували, зважували, спирторозчинні сполуки видаляли 82 % спиртом етиловим.

Для одержання водорозчинних полісахаридних комплексів (ВРПС) використовували повітряно-сухий шрот сировини після екстракції 82 % спиртом етиловим і видалення спирто-розчинних комплексів (СРК). Повітряно-сухий шрот екстрагували 1 л гарячої води при нагріванні до 95 °С протягом 1 години при постійному перемішуванні. Екстрагування ВРПС повторювали в таких умовах ще один раз. Рослинний матеріал відділяли центрифугуванням, а об'єднані водні екстракти упарювали на ротатійному випаровувачі до 1/5 об'єму. Полісахариди висаджували трикратним (по відношенню до водних екстрактів) об'ємом 96 % спирту етилового при кімнатній температурі. Осад, який випав, відфільтровували, промивали спиртом етиловим і

ацетоном, потім висушували і зважували.

Із рослинного шроту, що залишився після видалення ВРПС, виділяли пектинові речовини (ПР). Екстракцію ПР проводили двічі сумішню 0,5 % розчинів кислоти щавлевої і амонію оксалату у співвідношенні 1:1 при 80-85 °С впродовж 2-х годин. Об'єднані екстракти концентрували і висаджували чотирикратним об'ємом 96 % спирту етилового. Одержані осадки відфільтровували, промивали спиртом етиловим, висушували і зважували.

Із шроту, який залишився після видалення пектинових речовин, виділяли геміцелюлози А і Б (ГЦ А і ГЦ Б). Екстракцію проводили 7 % розчином натрію гідроксиду у співвідношенні 1:5 впродовж 12 годин при кімнатній температурі. При додаванні кислоти оцтової льодяної утворювався осад ГЦ А, який відфільтровували, висушували і зважували. До фільтрату додавали двократний об'єм 96 % спирту етилового, при цьому утворювався осад ГЦ Б, який відфільтровували, промивали спиртом етиловим, висушували і зважували [3,4,5,6].

Для встановлення моносахаридного складу ВРПС, ПР проводили їх гідроліз кислотою сульфатною (1 моль/л) [6,7].

Моносахариди визначали в гідролізатах методом паперової хроматографії в системах розчинників: н-бутанол-піридин-вода (6:4:3) і етилацетат-кислота оцтова-кислота мурашина-вода (18:3:1:4) паралельно з достовірними зразками моносахаридів. Хроматограми після висушування на повітрі обробляли анілінфталатним реактивом і нагрівали в сушильній шафі при температурі 100-105 °С. Моносахариди проявлялися у вигляді червоно-коричневих плям.

Визначення вуглеводів і органічних кислот методом високоефективної рідинної хроматографії. Подрібнену, як зазначено вище, досліджувану сировину близько 10 г (точна наважка) знежирювали петролейним етером тричі по 50 мл впродовж 30 хв при температурі не вище 50 °С. Сировину висушували, зважували і екстрагували 1 % розчином натрію ацетату тричі по 30 мл впродовж 30 хв при температурі не вище 50 °С, фільтрували, перенесли в мірну колбу на 100 мл і доводили об'єм розчину до мітки 1 % розчином натрію ацетату. Після фільтрування (мембранні фільтри Chromafil GF/PET-45/25) проводили визначення вмісту вуглеводів та органічних кислот за допомогою системи рідинного хроматографу високороздільної здатності Smartline (Knauer, Німеччина) з прямою фазою на колонці 300 × 8 мм, яка була заповнена набивочним матеріалом Eurokat H, 10 мкм. Рухома фаза – 0,01 н розчин кислоти сульфатної, швидкість потоку – 1,0 мл/хв., об'єм проби – 20 мкл. Кількісне визначення – за допомогою рефрактометричного детектора RI Detector 2300 (Knauer, Німеччина). Тиск в колонці підтримувався на рівні 6,3 МПа, температура – 50 °С.

Управління хроматографічною системою, отримання хроматограм та обчислювання результатів проводилось за допомогою ПЗ ClarityChrom. Статистичну обробку отриманих даних проводили, використовуючи програму Statistica. В якості стандартів для калібрування хроматографа використовували набір достовірних зразків вуглеводів і органічних кислот, приготування яких здійснювали в 1 % розчині натрію ацетату.

Результати дослідження, їх обговорення. В результаті проведених досліджень були виділені СРК, ВРПС, ПР, ГЦ А, ГЦ Б із трави щучника дернистого і трави куничника звичайного. Вихід для трави щучника дернистого СРК склав 7,91 %, ВРПС – 1,84 %, ПР – 0,42 %, ГЦ А – 0,98 %, ГЦ Б – 18,45 %; для трави куничника звичайного СРК склав 3,08 %, ВРПС - 0,59 %, ПР – 0,31 %, ГЦ А – 2,44 %, ГЦ Б – 8,30 %. Результати досліджень наведено в таблиці 1.

Таблиця 1. Кількісний вміст полісахаридів за фракціями, які виділено з трави щучника дернистого і трави куничника звичайного

Назва ЛРС	Вихід, в % від повітряно-сухої сировини			
	ВРПС	ПР	ГЦ А	ГЦ Б
Трава щучника дернистого	1,84	0,42	0,98	18,45
Трава куничника звичайного	0,59	0,31	2,44	8,30

ВРПС, які виділено з трави щучника дернистого, являють собою аморфний порошок кремового кольору; він добре розчиняється в воді (рН 1 % розчину знаходиться в межах 5-6), в водних розчинах кислот і лугів і не розчиняється в органічних розчинниках. Полісахаридний комплекс дає позитивні реакції висадження спиртом, ацетоном, реакцію з реактивом Фелінга після кислотного гідролізу полісахаридів [6].

ВРПС, які виділено з трави куничника звичайного, являють собою аморфний порошок коричневого кольору; він добре розчиняється в воді (рН 1 % розчину знаходиться в межах 5-6), в водних розчинах кислот і лугів і не розчиняється в органічних розчинниках. Полісахаридний комплекс дає позитивні реакції висадження спиртом, ацетоном, реакцію з реактивом Фелінга після кислотного гідролізу полісахаридів [6].

ПР з трави щучника дернистого являють собою аморфний порошок світло-кремового кольору, який добре розчиняється в воді (рН 1 % розчину знаходиться в межах 3-4). З водного розчину ПР висаджуються 1 % розчином алюмінію сульфату з утворенням пектатів [4].

Таблиця 2. Вміст вуглеводів і солей органічних кислот в траві щучника дернистого

	Оксалати	Сахароза + мальтоза	Цитрати	Глюкоза	Фруктоза + х-компонент	Сукцинати
Площа піків, [mRIU/s]	0,018	0,060	0,041	0,130	0,218	0,014
C, мг/мл	0,13	0,27	0,24	0,60	1,03	0,10
Площа піків, [mRIU/s]	0,016	0,060	0,038	0,135	0,230	0,020
C, мг/мл	0,12	0,27	0,22	0,63	1,09	0,14
Площа піків, [mRIU/s]	0,016	0,059	0,038	0,133	0,225	0,019
C, мг/мл	0,12	0,27	0,22	0,62	1,06	0,13
X _{ср.} , [mRIU/s]	0,017	0,060	0,039	0,133	0,224	0,018
X _{ср.} C, мг/мл	0,12	0,27	0,23	0,62	1,06	0,12

ПР з трави куничника звичайного являють собою аморфний порошок світло-кремового кольору, який добре розчиняється в воді (рН 1 % розчину знаходиться в межах 3-4). З водного розчину ПР висаджуються 1 % розчином алюмінію сульфату з утворенням пектатів [4].

Методом паперової хроматографії паралельно з достовірними зразками моносахаридів в досліджуваних ВРПС трави щучника дернистого ідентифікували глюкозу, фруктозу, ксилозу, галактозу; в траві куничника звичайного - глюкозу, фруктозу, ксилозу.

В виділених ПР з обох видів сировини домінуючою була галактуронова кислота.

Геміцелюлози (ГЦ А і ГЦ Б) являють собою аморфні порошки від світло-коричневого до коричневого кольору. В гідролізаті ГЦ А і ГЦ Б знайдені ксилоза, глюкоза, фруктоза, галактоза.

За розміром плям і інтенсивністю їх забарвлення домінуючим моносахаридом є глюкоза, що вказує на наявність полісахаридів типу глюканів.

Методом високоефективної рідинної хроматографії були визначені вуглеводи і солі органічних кислот в траві куничника звичайного і щучника дернистого. Схема хроматограми трави щучника дернистого представлена на рис. 1.

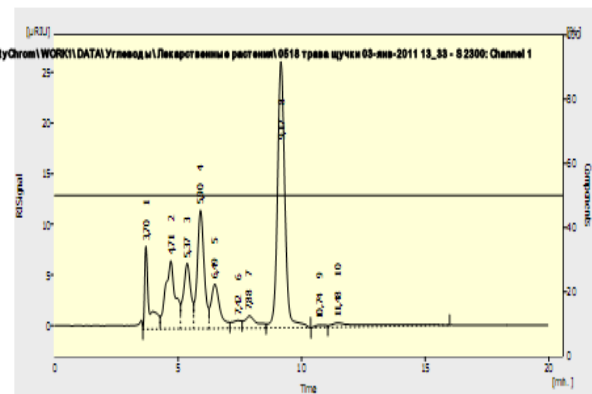


Рис. 1. Схема хроматограми трави щучника дернистого

Результати дослідження вуглеводів і солей органічних кислот в траві щучника дернистого представлено в табл. 2.

Як видно з табл. 2 в траві щучника дернистого наявні такі вуглеводи як сахароза + мальтоза в кількості 0,27 мг/мл; глюкоза – 0,62 мг/мл; фруктоза + х-компонент – 1,06 мг/мл; та солі органічних кислот: оксалати - 0,12 мг/мл, цитрати – 0,23 мг/мл; сукцинати – 0,12 мг/мл.

Схема хроматограми трави куничника звичайного представлена на рис. 2.

Таблиця 3. Вміст вуглеводів і солей органічних кислот в траві куничника звичайного

	Оксалати	Сахароза + мальтоза	Цитрати	Глюкоза	Фруктоза + х-компонент	Сукцинати
Площа піків, [mRIU/s]	0,020	0,041	0,018	0,152	0,140	0,018
C, мг/мл	0,14	0,19	0,11	0,71	0,66	0,12
Площа піків, [mRIU/s]	0,022	0,041	0,021	0,159	0,151	0,011
C, мг/мл	0,14	0,19	0,12	0,74	0,71	0,08
Площа піків, [mRIU/s]	0,021	0,037	0,019	0,152	0,146	0,017
C, мг/мл	0,15	0,17	0,11	0,71	0,69	0,12
X _{сер.} [mRIU/s]	0,021	0,040	0,019	0,154	0,146	0,015
X _{сер.} C, мг/мл	0,15	0,18	0,11	0,72	0,69	0,10

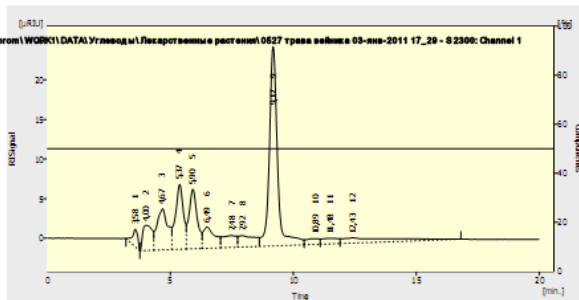


Рис. 2. Схема хроматограми трави куничника звичайного

Результати дослідження вуглеводів і солей органічних кислот в траві куничника звичайного представлено в табл. 3. Як видно з табл. 3 в траві куничника звичайного наявні такі вуглеводи як сахароза + мальтоза в кількості 0,18 мг/мл; глюкоза – 0,72 мг/мл; фруктоза + х-компонент – 0,69 мг/мл; та солі органічних кислот: оксалати - 0,15 мг/мл, цитрати – 0,11 мг/мл; сукцинати – 0,10 мг/мл.

Висновки:

1. Виділено полісахариди з трави куничника

звичайного та щучника дернистого. Встановлено, що вуглеводний комплекс представлено водорозчинними полісахаридами (ВРПС), пектиновими речовинами (ПР), геміцелюлозами (ГЦ) А і Б.

2. Методом паперової хроматографії паралельно з достовірними зразками моносахаридів в досліджуваних ВРПС трави щучника дернистого ідентифікували глюкозу, фруктозу, ксилізу, галактозу; в траві куничника звичайного - глюкозу, фруктозу, ксилізу.

3. В виділених ПР з обох видів сировини домінуючою була галактуронова кислота.

4. Методом високоефективної рідинної хроматографії були визначені вуглеводи і органічні кислоти в траві куничника звичайного і щучника дернистого.

5. Полісахариди і органічні кислоти виділено і досліджено з трави щучника дернистого і трави куничника звичайного вперше.

6. Одержані результати можуть бути використані при розробці методик контролю якості на лікарську рослину сировину та субстанції з неї.

ЛІТЕРАТУРА:

1. **Виноградова Т.А., Гажев Б.Н.** Практическая фитотерапия. М.: «ОЛМА ПРЕСС» СПб: Издательский Дом «Нева», «Валерии СПД», 1998. – 640 с.
 2. **Губанов И.А.** Луговые травянистые растения. Биология и охрана: Справочник / И.А. Губанов, К.В. Киселева, В.С. Новиков, Тихомиров В.Н. – М.: Агропромиздат, 1990. – 183 с.
 3. **Кочетков Н.К.** Химия биологически активных природных соединений. М., 1970. – 378 с.

4. **Лигай Л.В., Рахимов Д.А., Бандюкова В.А.** Изучение углеводов *Malva neglecta* L. // Химия природн. соединений. 1989. № 2. – С. 280-281.
 5. **Прохорова М.И.** Методы биохимических исследований. / М.И. Прохорова – Л.: Химия, 1982. – 272 с.
 6. **Степаненко Б.Н.** Химия и биохимия углеводов / Полисахариды / М., 1978. – 256 с.
 7. **European Pharmacopoeia, 4-th ed.** – Strasbourg, 2001. – 2416 p.

Бурлака І.С., Кисличенко В.С., Поздняков В.В. Дослідження полісахаридів та органічних кислот трави куничника звичайного та щучника дернистого // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С.50-52.

З ціллю комплексного дослідження лікарської рослини були одержані полісахаридні комплекси за фракціями, методом паперової та високоефективної рідинної хроматографії досліджено склад полісахаридних фракцій та органічних кислот трави куничника звичайного та щучника дернистого і визначено їх кількісний вміст.

Ключові слова: полісахаридний комплекс, водорозчинні полісахариди, пектинові речовини, геміцелюлози, трава щучника дернистого, трава куничника звичайного, хроматографія.

Бурлака И.С., Кисличенко В.С., Поздняков В.В. Исследование полисахаридов и органических кислот травы вейника наземного и щучки дернистой // Украинский медицинский альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С.50-52.

С целью комплексного исследования лекарственного растительного сырья были получены полисахаридные комплексы по фракциям, методом бумажной и высокоэффективной жидкостной хроматографии исследован состав полисахаридных фракций и органических кислот травы вейника наземного и щучки дернистой и определено их количественное содержание.

Ключевые слова: полисахаридный комплекс, водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, геміцелюлозы, трава щучки дернистой, трава вейника наземного, хроматография.

Burlaka I.S., Kyslychenko V.S., Pozdnyakov V.V. Research of polysaccharides and organic acids of bash-grass and hairgrass // Украинский медицинский альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С.50-52.

The polysaccharides complexes on fractions were obtained and studied for complex research of medicinal plant materials by paper chromatography and HPLC. The organic acids from this plants were studied. Amount of polysaccharides and organic acids were determined.

Key words: polysaccharides complexes, water soluble polysaccharides, pectin substances, gemmicelluloses, bash-grass, hairgrass, chromatography.

Надійшла 15.02.2011 р.

Рецензент: проф. Л.В.Савченкова