Рекомендована д.ф.н., професором А.Г.Сербіним

УДК 615.322:577.114

ДОСЛІДЖЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ ТРАВИ ГРИНДЕЛІЇ РОЗЧЕПІРЕНОЇ

І.В.Ємельянова, В.М.Ковальов, І.О.Журавель

Національний фармацевтичний університет

Проведено детальне вивчення вуглеводів трави гринделії розчепіреної. Встановлена наявність вільних і зв'язаних цукрів, речовин глікозидного типу, 2-дезоксицукрів, полісахаридного комплексу, а також нейтральних та кислих моносахаридів. У траві гринделії розчепіреної визначені вільні цукри: D-галактозу, D-глюкозу та D-фруктозу. Досліджено мономерний склад полісахаридного комплексу гринделії розчепіреної, до якого входять пентози L-арабіноза і D-ксилоза та гексози: D-галактоза, D-глюкоза, D-маноза і L-рамноза. Визначено, що у складі глікозидів фенольних речовин рослини переважають пентоза L-арабіноза та гексози D-глюкоза і D-галактоза. Встановлено кількісний вміст полісахаридного комплексу в траві гринделії розчепіреної, який складає 2,26%, та в шроті після отримання суми поліфенольних сполук, який складає 3,83%.

Стаття присвячена продовженню дослідження біологічно активних речовин гринделії розчепіреної або Grindelia squarrosa роду Grindelia Willd. родини Asteraceae Gmelin підродини Carduoideae Kitam, коліна Astereae Cass., підколіна Solidagininae O.Holtm., яка широко розповсюджена на території України та охоплює степову і лісостепову зони [4].

Хімічний склад гринделії розчепіреної вивчено недостатньо [4, 7-15]. Раніше ми проводили детальне вивчення ліпофільних та поліфенольних сполук гринделії розчепіреної [2, 3, 5]. Дані стосовно її вуглеводного складу відсутні, тому предметом нашого подальшого дослідження стало вивчення вуглеводного складу гринделії розчепіреної, розповсюдженої на території України. А метою нашої роботи було дослідження складу вільних та зв'язаних вуглеводів, що входять до складу глікозидів фенольних сполук та полісахаридного комплексу трави гринделії розчепіреної, та визначення кількісного вмісту полісахаридного комплексу у траві та шроті після отримання суми поліфенольних сполук.

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були зразки трави гринделії розчепіреної, заготовлені у 2001- 2002 роках у Харківській області у фазі цвітіння.

Для проведення попереднього якісного аналізу готували водні та спирто-водні екстракти. Для одержання водних екстрактів брали по 10,0 г сировини гринделії розчепіреної, подрібненої до розміру частинок 1-2 мм, вміщували в колбу зі шліфом, заливали 40 мл води та нагрівали на киплячому водяному нагрівнику зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Отриману витяжку фільтрували через складчастий фільтр у суху колбу. Екстракцію сировини проводили ще два рази новими порціями розчинника. Об'єднані витяжки концентрували та використовували для проведення якісних реакцій. Для одержання спирто-водних екстрактів також брали по 10,0 г сировини гринделії та екстрагували розчином етанолу аналогічним чином.

Попереднє дослідження вуглеводів проводили за допомогою якісних реакцій: реакції Келера-Кіліані, реакції з реактивом Фелінга, реакції з α-нафтолом, реакції на полісахаридний комплекс, а також реакцій на виявлення відновлюючих (нейтральних) та кислих моносахаридів [1, 6].

Якісне вивчення вільних та зв'язаних цукрів, а також встановлення якісного мономерного складу полісахаридного комплексу після гідролізу проводили методом паперової та тонкошарової хроматографії.

Для хроматографічного вивчення вільних цукрів отримували концентровані водні та спирто-водні екстракти гринделії розчепіреної з нативної сировини, попередньо очищеної хлороформом від ліпофільних сполук, та етилацетатом від фенольних сполук. Для цього брали дві порції трави гринделії розчепіреної по 10,0 г, подрібненої до розміру частинок 1-2 мм. Першу порцію сировини вміщували в колбу зі шліфом, заливали 50 мл води та нагрівали на киплячому водяному нагрівнику зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Отриману витяжку фільтрували через складчастий фільтр у суху колбу. Екстракцію сировини проводили ще два рази новими порціями розчинника, витяжки об'єднували та концентрували упарюванням на водяному огрівнику. Другу порцію сировини попередньо екстрагували хлороформом в апараті Сосклета для видалення ліпофільних

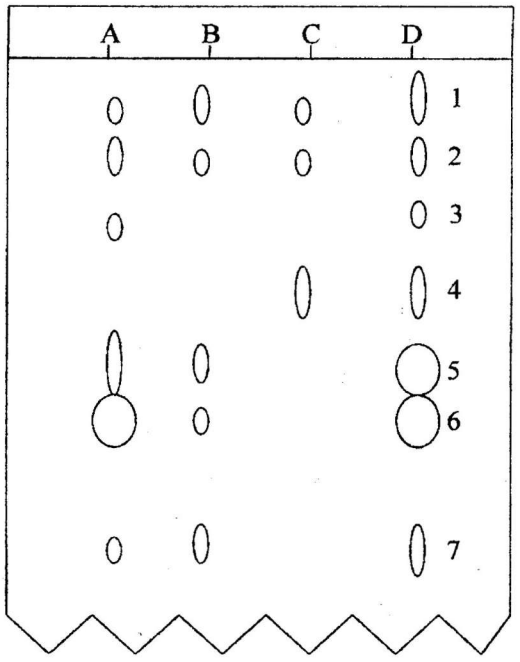

Рис. Схема паперової хроматограми екстрактів трави гринделії розчепіреної, де: A — гідролізат полісахаридного комплексу, B — гідролізат фенольних речовин, C — екстракт з вільними цукрами, D — суміш достовірних зразків цукрів: 1 — галактоза, 2 — глюкоза, 3 — маноза, 4 — фруктоза, 5 — арабіноза, 6 — ксилоза, 7 — рамноза.

сполук та висушували, після чого екстрагували етилацетатом в цьому ж апараті для виділення фенольних сполук. Очищену сировину висушували до видалення залишків органічного розчинника та екстрагували водою аналогічно першому зразку сировини.

Для виділення комплексу полісахаридів брали по 50,0 г подрібненої трави гринделії та шроту; після отримання суміш поліфенольних сполук за частками, що проходять крізь сито з розміром отворів 1 мм, поміщали у колбу зі шліфом місткістю 1000 мл, додавали 500 мл води. Колбу приєднували до зворотного холодильника і кип'ятили на протязі 30 хв. Екстракт охолоджували і проціджували крізь вату. До 100 мл витяжки доливали 300 мл 95% спирту і перемішували. Осад полісахаридного комплексу відокремлювали фільтруванням крізь скляний фільтр ПОР 16 і використовували для проведення якісного аналізу та визначення мономерного складу полісахаридного комплексу. Для цього необхідно було провести кислотний гідроліз отриманого полісахаридного комплексу.

Гідроліз полісахаридного комплексу проводили наступним чином. Осад полісахаридів (2 г) розчиняли у воді, додавали такий ж об'єм 10% сірчаної кислоти та гідролізували на водяній бані протягом 2 годин. Отриманий гідролізат нейтралізували карбонатом барію. Осад сульфату барію відокремлювали фільтруванням, промивали водним розчином спирту та відкидали. Фільтрат концентрували на водяному нагрівнику та вивчали методом паперової та тонкошарової хроматографії.

Для хроматографічного вивчення зв'язаних цукрів, які входять до складу глікозидів фенольних сполук, отримували розчинами етанолу суму фенольних сполук гринделії розчепіреної, упарювали до водного залишку та гідролізували отриманий комплекс фенольних речовин при додаванні до водного залишку такого ж об'єму 10% сірчаної кислоти протягом 7 год на водяному нагрівнику. Після цього аглікони екстрагували етилацетатом, а водний залишок нейтралізували карбонатом барію. Осад сульфату барію відокремлювали фільтруванням, промивали водним розчином спирту та відкидали. Фільтрат концентрували на водяному нагрівнику, концентрували та використовували для аналізу вуглеводів.

Якісне вивчення вільних та зв'язаних цукрів проводили методом паперової та тонкошарової хроматографії в наступних системах розчинників: бутанол — оцтова кислота — вода (4:1:2), гексан — оцтова кислота — метанол (13:6:2) та ацетон — бутанол — вода (7:2:1).

Як свідки при хроматографуванні використовувались пентози: L-арабіноза і D-ксилоза та гексози: D-галактоза, D-глюкоза, D-фруктоза, D-маноза та L-рамноза, а також зразки сахарози та лактози.

Хроматограми після хроматографування висушували у витяжній шафі та обробляли анілінфталатним реактивом (930 мг аніліну і 1,65 г кислоти фталевої розчиняли в 100 мл бутанолу, насиченого водою). Після цього хроматограми видержували у сушильній шафі при 105°С протягом 5 хв.

Кількісне дослідження полісахаридного комплексу трави та шроту після отримання суми фенольних сполук проводили гравіметричним методом [1].

Результати та їх обговорення

Для попереднього вивчення вуглеводів трави гринделії розчепіреної за наведеними вище методиками були отримані водні, спирто-водні екстракти та полісахаридний комплекс з нативної та попередньо очищеної хлороформом та етилацетатом сировини.

За допомогою якісних реакцій: реакції з реактивом Фелінга, реакції з α-нафтолом, реакції Келера-Кіліані, реакції на полісахаридний комплекс, реакцій на визначення відновлюючих (нейтральних) та кислих моносахаридів була встановлена наявність вільних і зв'язаних цукрів, речовин глікозидного типу, 2- дезоксицукрів, полісахаридного комплексу, а також відновлюючих (нейтральних) та кислих моносахаридів у траві гринделії розчепіреної.

Для детального дослідження моносахаридного складу вільних та зв'язаних вуглеводів готували екстракти за наведеними вище методиками та аналізували їх методом паперової та тонкошарової хроматографії в системах розчинників: бутанол-оцтова кислотавода (4:1:2), гексан — оцтова кислота — метанол (13:6:2) та ацетон — бутанол — вода (7:2:1). Найкраще розділення вуглеводів спо-

Таблиця 1

Результати кількісного визначення полісахаридів у траві гринделії розчепіреної

№ досліду	Маса полісахаридів, г	Кількісний вміст, %	Середнє значення, %
1	0,0108	2,25	2,26
2	0,0112	2,26	
3	0,0113	2,33	
4	0,0113	2,26	
5	0,0099	2,19	

Таблиця 2

Результати статистичної обробки даних кількісного визначення полісахаридів у траві гринделії розчепіреної

n	$x_{сер}$	S_x	$S_{x\ сер}$	f	P	t(P; f)	Δx	ε
5	2,26	0,043697	0,0222	4	95	2,78	0,06	2,74

Таблиця 3

Результати кількісного визначення полісахаридів у шроті після отримання поліфенольного екстракту гринделії розчепіреної

№ досліду	Маса полісахаридів, г	Кількісний вміст, %	Середнє значення, %
1	2,0706	4,11	3,83
2	2,0315	3,80	
3	1,7653	3,46	
4	2,0423	4,01	
5	1,9523	3,75	

Таблиця 4

Результати статистичної обробки даних кількісного визначення полісахаридів у шроті після отримання поліфенольного екстракту гринделії розчепіреної

n	$x_{сер}$	S_x	$S_{x\ сер}$	f	P	t(P; f)	Δx	ε
5	3,83	0,2524	0,1129	4	95	2,78	0,31	8,20

стерігалось у системі розчинників ацетон — бутанол — вода (7:2:1). Як свідки при хроматографуванні використовувались пентози: L-арабіноза і D-ксилоза та гексози: D-галактоза, D-глюкоза, D-фруктоза, D-маноза та L-рамноза, а також зразки сахарози та лактози.

Після хроматографування та обробки хроматограм анілінфталатним реактивом та витримуванні у сушильній шафі при 105°С протягом 5 хв речовини, які відносили до гексоз, набували коричневого забарвлення, пентози — червоного. Схема паперової хроматограми екстрактів трави гринделії розчепіреної в системі розчинників: ацетон — бутанол — вода (7:2:1) представлена на рис.

Як можна побачити з рис., у траві гринделії розчепіреної визначені вільні цукри: D-галактоза, D-глюкоза, D-фруктоза. До складу полісахаридного комплексу входять наступні моноцукри: пентози L-арабіноза і D-ксилоза та гексози: D-галактоза, D-глюкоза, D-маноза та L-рамноза. А до складу глікозидів фенольних речовин гринделії розчепіреної входять пентоза L-арабіноза та гексози D-галактоза, D-глюкоза, крім того, слідова кількість L-рамнози і D-ксилози.

Кількісне визначення полісахаридного комплексу проводили гравіметричним методом після висадження спиртом у нативній сировині та шроті та отримання суми поліфенольних сполук. Паралельно проводили по п'ять визначень. Результати експерименту та статистичної обробки результатів експерименту наведені в табл. 1-4.

Слід відмітити, що полісахаридний комплекс представляв собою світло-коричневий порошок при отриманні із шроту гринделії розчепіреної та зеленувато-коричневий — з нативної сировини, що пояснюється вмістом смолистих речовин, адсорбованих на полісахаридному комплексі. Крім того, кількісний вихід полісахаридного комплексу зі шроту значно вищий, ніж з нативної сировини.

ВИСНОВКИ

1. Вперше в Україні проведено детальне вивчення вуглеводів трави гринделії розчепіреної. За допомогою якісних реакцій встановлена наявність вільних і зв'язаних цукрів, речовин глікозидного типу, 2-дезоксицукрів, полісахаридного комплексу, а також нейтральних та кислих моносахаридів у траві гринделії розчепіреної.
2. У траві гринделії розчепіреної визначені вільні цукри: D-галактоза, D-глюкоза та D-фруктоза.
3. Досліджено мономерний склад полісахаридного комплексу гринделії розчепіреної, до якого входять наступні моноцукри: пентози L-арабіноза і D-ксилоза та гексози: D-галактоза, D-глюкоза, D-маноза та L-рамноза.
4. Визначено, що до глікозидів фенольних речовин гринделії розчепіреної входять переважно пентоза L-арабіноза та гексози D-глюкоза і D-галактоза.
5. Встановлено кількісний вміст полісахаридного комплексу в траві гринделії розчепіреної та шроті після отримання суми поліфенольних сполук.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Государственная фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. — 11-е изд. — М.: Медицина, 1987. — 336 с.*
2. *Ємельянова І.В., Ковальов В.М., Журавель І.О. Виділення комплексів фенольних сполук гринделії розчепіреної // Тези III Міжнар. наук.-практ. конф. "Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія". Ч. 1. — Х.: Вид-во НфаУ, 2003. — С. 117.*

3. *Ємельянова І.В., Ковальов В.М., Журавель І.О. // Фармаком. — 2003. — №1. — С. 57-64.*
4. *Ковалева-Загравская И.В., Ковалев В.Н., Журавель И.А // Провизор. — 2000. — №9. — С. 42-43.*
5. *Ковальова-Загравська І.В., Ковальов В.М., Журавель І.О. // Вісник фармації. — 2002. — №1 (29). — С. 24-27.*
6. *Солодовниченко Н.М., Журавльов М.С., Ковальов В.М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати. — Х.: Вид-во НФАУ, 2001. — 407 с.*
7. *Flora of North America. American Editorial Committee Vol. II. — Oxford: Oxford Univ. Press NY, 1993. — 475 p.*
8. *Gleason H.A., Cronquist A. Manual of vascular plants of northeastern United States and adjacent Canada. / 2nd Ed. — New York: New York Botanical Garden, 1991. — 910 p.*
9. *Johnson J.R., Larson G.E. Grassland Plants of South Dakota and the Northern Great Plains. South Dakota State University, College of Agriculture and Biological Sciences, South Dakota Agricultural Experiment Station: Brookings SD, 1999. — 288 p.*
10. *Kaltenbach G., Schafer M., Schimmer O. // J. Essent. Oil Res. — 1993. — Vol. 5, №1. — P. 107-108.*
11. *Larson G.E., Johnson J.R. Plants of the Black Hills and Bear Lodge Mountains. South Dakota State University, College of Agriculture and Biological Sciences, South Dakota Agricultural Experiment Station: Brookings SD, 1999. — 608 p.*
12. *Stubbendieck J., Hatc S.L., Butterfield C.H. North American Range Plants / 5th Ed. — University of Nebraska Press, Lincoln and London, 1993. — 493 p.*
13. *Timmermann B.N., Hoffmann J.J., Jolad S.D. // Phytochemistry. — 1985. — Vol. 24, №5. — P. 1031-1034.*
14. *Timmermann B.N., McLaughlin S.P., Hoffmann J.J. // Biochem. Syst. and Ecol. — 1987. — Vol. 15, №4. — P. 401-410.*
15. *Welsh S.L. Utah Flora / 2nd Ed. — Brigham Young University: Provo UT, 1993. — 986 p.*

УДК 615.322:577.114

ИЗУЧЕНИЕ УГЛЕВОДОВ ТРАВЫ ГРИНДЕЛИИ РАСТОПЫРЕННОЙ

И.В.Емельянова, В.Н.Ковалев, И.А.Журавель

Проведено подробное изучение углеводов травы гринделии растопыренной. Установлено наличие свободных и связанных сахаров, веществ гликозидного типа, 2-дезоксисахаров, полисахаридного комплекса, а также нейтральных и кислых моносахаридов. В траве гринделии растопыренной определены свободные сахара: D-галактоза, D-глюкоза и D-фруктоза. Изучен мономерный состав полисахаридного комплекса гринделии растопыренной, в состав которого входят пентозы L-арабиноза и D-ксилоза, а также гексозы: D-галактоза, D-глюкоза, D-манноза и L-рамноза. Определено, что в составе гликозидов фенольных соединений гринделии растопыренной преобладают пентоза L-арабиноза и гексозы D-глюкоза и D-галактоза. Установлено количественное содержание полисахаридного комплекса в траве гринделии растопыренной, что составляет 2,26%, и в шроте после получения суммы полифенольных соединений, которое составляет 3,83%.

UDC 615.322:577.114

STUDYING OF CARBOHYDRATES OF GRINDELIA SQUARROSA HERB

I.V.Yemelyanova, V.M.Kovalev, I.O.Zhuravel

The analysis of carbohydrates of Grindelia squarrosa herb has been conducted. The presence of linked and free carbohydrates, glykozides, 2-deoxysugars, polysaccharide complex, and also neutral and acidic monosaccharides have been determined. The presence of free carbohydrates: a D-galactose, D-glucose and D-fructose in Grindelia squarrosa herb have been determined. The monomeric structure of polysaccharide complex of Grindelia squarrosa has been studied, the latter includes: L-arabinose and D-xylose pentoses, and also D-galactose, D-glucose, D-mannose and L-rhamnose hexoses. We have established that in a structure of glycosides of phenolic compounds of Grindelia squarrosa herb prevail L-arabinose pentose, and both D-glucose and D-galactose hexoses. The quantitative contents of polysaccharide complex in Grindelia squarrosa herb has been determined, which makes 2,26%, and in herb, after obtaining the sum of polyphenolic substances, which makes 3,83%.