

УДК 615.322:577.114

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ ТРАВЫ ДОННИКА РОСЛОГО (MELILOTUS ALTISSIMUS THUILL.)

© 2004 г. И.Л. Дроздова

Курский государственный медицинский университет

В статье приведены результаты выделения и химического исследования полисахаридов травы донника рослого методами бумажной хроматографии и денситометрии. Установлено, что данный углеводный комплекс представлен водорастворимыми полисахаридами, пектиновыми веществами, гемицеллюлозами; установлен их качественный и количественный моносхаридный состав. Определено содержание основных функциональных групп пектинов. Преобладающими в полисахаридном комплексе травы донника рослого являются водорастворимые полисахариды и пектиновые вещества.

Род Донник (*Melilotus* Mill.) относится к семейству Бобовых (*Fabaceae*) и включает в себя около 20 видов [8]. Представители рода Донник – одно- или двулетние травянистые растения, распространенные во всех регионах, кроме Арктики [2].

Донник рослый (*Melilotus altissimus* Thuill.) – двулетнее травянистое растение высотой 50-150 см, широко распространенное в Европейской части России и Западной Сибири; произрастает преимущественно на влажных лугах и пастбищах [8].

Донник рослый был включен в I-VIII издания отечественной Фармакопеи [11]. Трава донника относится к средствам, влияющим на свертываемость крови (антикоагулянт непрямого типа действия). Донник рослый разрешен к применению как компонент успокоительного сбора наряду с донником лекарственным [5].

Донник рослый обладает широким спектром фармакологической активности: диуретическим, ранозаживляющим, лактогенным (надземная часть); его рекомендуют использовать при тромбозах (подземная часть), при респираторных инфекциях, карциномах, лихорадке, асците (надземная часть) [2]. В эксперименте подземная часть этого растения оказывает антиишемическое действие при ишемии головного мозга и сердца [2].

Данное растение широко используется в народной медицине в качестве заменителя донника лекарственного [8]; однако, химический состав его изучен недостаточно.

Из данных литературы известно, что донник рослый содержит кумарины (мелилотозид), флавоноиды (робинозид), фенолкарбоновые кислоты (о-гидроксикоричную кислоту) [8].

Цель нашей работы заключалась в выделении и химическом изучении полисахаридов из травы донника рослого.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила воздушно-сухая измельченная трава донника рослого, заготовленная в 2001-2003 гг. в период цветения растений.

Мы использовали методику последовательного фракционного выделения полисахаридов Н.К. Кочеткова. С помощью этой методики полисахаридные комплексы из травы донника рослого были разделены на фракции, содержащие водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлозы А и Б [4].

Предварительно лекарственное сырье экстрагировали 70% спиртом этиловым для удаления веществ полифенольной природы [3,7].

Для получения водорастворимых полисахаридных комплексов (ВРПС) использовали воздушно-сухой шрот сырья после экстракции полифенольных соединений. 100 г воздушно-сухого шрота экстрагировали 2 л горячей воды при нагревании до 95°C в течение 1 часа при постоянном перемешивании. Повторное извлечение полисахаридов проводили дважды при соотношении сырье-экстрагент 1:10. Растительный материал отделяли центрифугированием, а объединенные экстракты упаривали до 1/5 первоначального объема. Полисахариды осаждали трехкратным (по отношению к извлечению) объемом 96% спирта этилового при комнатной температуре. Выпавшие плотные осадки отфильтровывали, промывали спиртом этиловым, ацетоном, затем высушивали и взвешивали.

Из шрота, оставшегося после получения ВРПС,

выделяли пектиновые вещества (ПВ). Экстракцию сырья проводили трехкратно смесью 0,5% растворов щавелевой кислоты и оксалата аммония (1:1) в соотношении 1:20 при 80-85°C в течение 2 часов. Объединенные экстракты концентрировали и осаждали пятикратным объемом 96% спирта этилового. Полученные осадки отфильтровывали, промывали спиртом этиловым, высушивали и взвешивали.

Из шрота, оставшегося после выделения пектиновых веществ, выделили гемицеллюлозы А и Б (ГЦ А и ГЦ Б). Экстракцию проводили 10% раствором натрия гидроксида в соотношении 1:5 при комнатной температуре в течение 12 часов. При добавлении ледяной уксусной кислоты образовался осадок ГЦ А, который отфильтровывали, высушивали и взвешивали. К фильтрату добавляли двукратный объем 96% спирта этилового, при этом образовывался осадок ГЦ Б, который промывали спиртом, высушивали и взвешивали [4].

Для установления моносхаридного состава ВРПС, ПВ, ГЦ проводили их гидролиз раствором кислоты серной (1 моль/л) при температуре 100°C. ВРПС гидролизывали в течение 6 часов, ПВ – 24 часа, ГЦ – 72 часа [9].

Моносахариды определяли в гидролизатах методом хроматографии на бумаге в системах растворителей: н.бутанол-пиридин-вода (6:4:3) и этилацетат-уксусная кислота-муравьиная кислота-вода (18:3:1:4) параллельно с достоверными образцами моносахаридов. Хроматограммы после высушивания на воздухе обрабатывали анилинфталатным реактивом и нагревали в сушильном шкафу при 100-105°C; моносахариды проявлялись в виде красновато-коричневых пятен.

Определение количественного содержания сахаров в гидролизатах выделенных ВРПС и ПВ, ГЦ А, ГЦ Б проводили денситометрически после хроматографии в тонком слое сорбента [10].

Для качественной характеристики выделенных пектиновых веществ проводили количественное определение основных функциональных групп (свободных карбоксильных, метоксилированных карбоксильных, общее количество карбоксильных, метоксилированных групп) титрометрическим методом [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований из травы донника рослого были выделены ВРПС, ПВ, ГЦ А, ГЦ Б. Выход ВРПС составил 7,5%, ПВ – 11,5 %, ГЦ А – 1,9%, ГЦ Б – 2,2% от воздушно-сухого сырья (см. табл.).

Проведенный гравиметрический анализ показал преобладание в исследуемом полисахаридном комплексе водорастворимой фракции полисахаридов (ВРПС) и пектиновых веществ (ПВ).

ВРПС, выделенный из травы донника рослого, представляет собой аморфный порошок светло-коричневого цвета; при растворении в воде образует опалесцирующий раствор (рН 1% водных растворов 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 с реактивом Фелинга после кислотного расщепления полисахаридов [9].

ПВ представляют собой аморфный порошок светло-серого цвета, хорошо растворимый в воде с образованием вязкого раствора (рН 1% водного раствора находится в пределах 3-4). Водный раствор пектиновых веществ осаждается 1% раствором алюминия сульфата с образованием пектатов. [6].

Гемицеллюлозы (ГЦ А и ГЦ Б) представляют собой аморфные порошки желтовато-коричневого цвета, хорошо растворимые в воде и щелочи.

Методом хроматографии на бумаге параллельно с достоверными образцами сахаров в гидролизатах исследуемых ВРПС идентифицировали глюкозу, галактозу, фруктозу, арабинозу, рамнозу, ксилозу, глюконовую и галактуроновую кислоты. По величине и интенсивности окраски пятен на хроматограммах, по предварительной оценке основными по содержанию в ВРПС были глюкоза и фруктоза, в ПВ – галактуроновая кислота. Кроме того, в выделенных ПВ обнаружены и нейтральные моносахариды – глюкоза, галактоза, арабиноза, рамноза, ксилоза. В гидролизатах ГЦ А и ГЦ Б обнаружены нейтральные моносахариды: ксилоза, рамноза, арабиноза, глюкоза и галактоза. По величине пятен и интенсивности их окраски на хроматограммах преобладающим моносахаридом является ксилоза, что указывает на наличие полисахаридов типа ксиланов.

Данные количественного анализа моносхаридного состава ВРПС, ПВ, ГЦ А, ГЦ Б, определенного денситометрически, представлены в таблице.

При определении основных функциональных групп пектинов установлено, что выделенные пектиновые вещества характеризуются содержанием свободных карбоксильных групп (22,06%), метоксилированных карбоксильных групп (10,89%), общим количеством карбоксильных групп (32,95%), метоксилированных групп (7,50%) и невысокой ($\lambda < 50\%$) степенью этерификации.

ВЫВОДЫ

1. В результате проведенных исследований были выделены и впервые разделены на фракции полисахариды из травы донника рослого. Установлено, что углеводный комплекс указанного растения представлены ВРПС, ПВ, ГЦ; методом бумажной хроматогра-

Характеристика полисахаридов, выделенных из травы донника рослого

Группа полисахаридов	Выход, % от воздушно-сухого сырья	Моносахаридный состав, % к полисахаридному комплексу							
		Глюкоза	Галактоза	Фруктоза	Ксилоза	Арабиноза	Рамноза	Галактуроновая кислота	Глюкуроновая кислота
- ВРПС	7,50	13,28	2,15	7,12	1,01	4,62	0,80	2,10	4,05
- ПВ	11,5	3,12	0,95	-	2,84	1,42	1,28	78,53	-
- ГЦ А	1,90	1,47	3,12	-	13,8	4,05	1,50	-	-
- ГЦ Б	2,20	4,85	1,64	-	9,45	2,61	1,10	-	-

Примечание: “-” – отсутствие моносахарида.

фии установлен их качественный моносахаридный состав. Денситометрически определено количественное содержание моносахаридов в ВРПС, ПВ, ГЦ А, ГЦ Б. Титриметрическим методом определено содержание основных функциональных групп пектинов.

2. Преобладающими в исследуемом полисахаридном комплексе являются водорастворимые фракции полисахаридов (ВРПС) и пектиновые вещества (ПВ). Высокий выход полисахаридов говорит о перспективности использования травы донника рослого в качестве источника ВРПС и ПВ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бузина Г.В. Титриметрический метод количественной и качественной характеристики пектиновых веществ / Г.В. Бузина, О.Ф. Иванова, Л.Б. Соновский // Хлебопекарная и кондитерская промышленность. – 1965. – №4. – С. 15-18.
2. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.
3. Исследования растительного полисахаридного комплекса / А.Г. Гончаров, Т.И. Исакова, Л.Д. Халева // Актуальные вопросы поиска и технологии лекарств: Тез. докл. Республик. науч. конф. – Харьков, 1981. – С. 139.
4. Кочетков, Н.К. Химия биологически активных

природных соединений / Н.И. Кочетков. – М.: Химия, 1970. – 378 с.

5. Лекарственные растения государственной Фармакопеи (Под ред. И.А. Самылиной, В.А. Северцева). – М., 2003. – С. 272-275.

6. Лигай Л.В. Изучение углеводов *Malva neglecta* L. / Л.В. Лигай, Д.А. Рахимов, В.А. Бандюкова // Химия природ. соединений. 1989, №2. – С. 280-281.

7. Получение и фитохимическое исследование полисахаридов из лекарственных растений / А.Г. Горин // Всерос. съезд фармацевтов: Тез. докл. – Свердловск, 1975. – С. 313-314.

8. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав и использование; Семейства *Hydrangeaceae* – *Naloragaceae*. – Л.: Наука, 1987. – С. 159-161.

9. Степаненко Б.Н. Химия и биохимия углеводов (Полисахариды) / Б.Н. Степаненко. – М.: Высш. шк., 1978. – 256 с.

10. Филиппов М.П. Колориметрическое определение урониновой части в пектиновых веществах / М.П. Филиппов // Изв. АН МССР: Сер. биол. и хим. наук. – 1973. – №3. – С. 76-79.

11. Шретер Г.К. Лекарственные растения и растительное сырье, включенные в отечественные фармакопеи / Г.К. Шретер. – М., 1972. – 119 с.