

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ, ФАРМАКОГНОЗИЯ / PHARMACEUTICAL CHEMISTRY,
PHARMACOGNOSY

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.126.74>

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИСТЬЕВ ИРГИ КРУГЛОЛИСТНОЙ (*AMELANCHIER OVALIS*
MEDIK) НА НАЛИЧИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ

Научная статья

Аджиахметова С.Л.^{1,*}, Андреева О.А.², Лигай Л.В.³, Червонная Н.М.⁴, Тихомирова Т.И.⁵

¹ORCID : 0000-0001-9685-1384;

^{1, 2, 3, 4, 5} Пятигорский медико-фармацевтический институт, филиал Волгоградского государственного медицинского университета, Пятигорск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (similla503[at]mail.ru)

Аннотация

Из листьев ирги круглолистной собранных в мае и начале сентября выделены водорастворимые полисахариды (ВРПС) и пектиновые вещества (ПВ). Сравнительная оценка качественного и количественного состава выделенных полисахаридных комплексов показала, что качественный состав как ВРПС так и ПВ весеннего и осеннего сбора практически идентичен, но количественный состав немного различается. Весенние листья, собранные в мае, по сравнению с листьями собранными в начале сентября, содержат немного больше ВРПС и меньше ПВ. Доминирующими моносахаридами ВРПС являются галактоза и ксилоза, а доминирующими моносахаридами ПВ – галактуроновая кислота и галактоза. Установлено, что степень метоксилирования пектиновых веществ, выделенных из весенних листьев, составляет 41,14 %, то есть относятся к низкоэтерифицированным (LM) пектинам.

Ключевые слова: водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, степень метоксилирования, листья ирги круглолистной.

A PHARMACOGNOSTIC STUDY OF LEAVES OF ROUND-LEAVED JUNE BERRY (*AMELANCHIER OVALIS*
MEDIK) FOR THE PRESENCE OF POLYSACCHARIDES

Research article

Adzhiakhmetova S.L.^{1,*}, Andreeva O.A.², Ligai L.V.³, Chervonnaya N.M.⁴, Tikhomirova T.I.⁵

¹ORCID : 0000-0001-9685-1384;

^{1, 2, 3, 4, 5} Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, branch of Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russian Federation

* Corresponding author (similla503[at]mail.ru)

Abstract

Water-soluble polysaccharides (WSP) and pectin substances (PS) were isolated from leaves of juneberry collected in May and early September. Comparative evaluation of the qualitative and quantitative composition of the isolated polysaccharide complexes showed that the qualitative composition of both WSP and PS of spring and autumn collection is almost identical, but the quantitative composition slightly differs. Spring leaves collected in May, compared with leaves collected in early September, contain slightly more WSP and less PS. The dominant monosaccharides of WSP are galactose and xylose, and the dominant monosaccharides of PS are galacturonic acid and galactose. It was found that the degree of methoxylation of pectin substances isolated from spring leaves is 41,14%, i.e. refer to low esterified (LM) pectins.

Keywords: water-soluble polysaccharides, pectin substances, degree of methoxylation, leaves of juneberry.

Введение

Несмотря на то, что в настоящее время создается огромное количество синтетических лекарственных средств, достаточно эффективных при лечении многих заболеваний, значение растений как источника биологически активных веществ сохраняется. По данным Всемирной организации здравоохранения, 80% населения мира предпочитает традиционную медицину, использующую при лечении различных заболеваний определённые растения, естественная среда обитания которых с каждым годом неуклонно сокращается [1]. Считается, что в настоящее время 15 000 видов находятся под угрозой исчезновения [1]. В связи с этим большое значение имеет поиск растений, которые могли бы стать новыми источниками биологически активных веществ. Объектом наших исследований стала ирга круглолистная (*Amelanchier ovalis* Medik), семейство розоцветные (*Rosaceae*) – кустарник, выращиваемый во многих садах с целью получения плодов, а также для создания живых изгородей. Ирга распространена по всей территории РФ, встречается даже в Западной Сибири [2], [3]. В народной медицине при лечении ряда заболеваний применяются все части растения [3], [4]. Исследованиями, проведёнными ранее, было установлено, что водные и водно-спиртовые извлечения, полученные из листьев ирги, собранных как весной, так и осенью, обладают достаточно высокой антиоксидантной активностью [5].

Целью данной работы явилось выделение водорастворимых полисахаридов (ВРПС) и пектиновых веществ (ПВ) из листьев ирги круглолистной, установление их количественного и качественного состава, а также определение степени этерификации выделенного пектина.

Материалы и методы

Объект исследования – листья ирги круглолистной заготавливались в ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института весной (в мае) и осенью (в начале сентября) 2021 года. Собранные листья имели овальную форму, сверху голые, снизу беловатые и опушенные. Средняя длина – 4 см, средняя ширина 2,7 см. До постоянной массы листья высушивали теневой сушкой. Измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито, имеющего диаметр отверстий 5 мм (№ 5600). В основу получения полисахаридов был положен метод Кочеткова, позволяющий из одной порции сырья выделить наиболее важные полисахаридные комплексы – ВРПС и ПВ [6]. Для исследования использовали 100,0 грамм сырья. Водорастворимые полисахариды извлекали водой дистиллированной, сырьё настаивали при комнатной температуре в течение пяти суток. Из той же порции сырья смесью 0,5% водного раствора оксалата аммония и щавелевой кислоты (1:1) экстрагировали ПВ. Экстракцию проводили в течение 1-го часа при 100°C. И водорастворимые полисахариды и пектиновые вещества осаждали из растворов 96%-ным спиртом этиловым. Моносахаридный состав выделенных полисахаридных комплексов устанавливали после кислотного гидролиза 2н кислотой серной. Гидролиз проводили в колбе с обратным холодильником при 100°C. ВРПС гидролизовали 10 часов, а ПВ – в течение 48 часов. Моносахариды в гидролизатах идентифицировали методом хроматографии на бумаге (БХ) в системе бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5). Сравнивали с достоверными образцами свидетелей. Хроматограммы проявляли анилинфталатным реактивом.

Определение массовых долей свободных карбоксильных групп, а также метоксилированных карбоксильных групп в составе пектиновых веществ, показателей необходимых для установления степени его этерификации, проводили титриметрическим методом [7], [8], [9].

Использовали пектин, выделенный из весенних листьев.

Степень этерификации (метоксиэтерификации) пектина – это величина, которая соответствует отношению содержания этерифицированных карбоксильных групп к сумме свободных и этерифицированных карбоксильных групп, то есть к общему количеству карбоксильных групп (в процентах). Рассчитывают по формуле:

$$\lambda\% = K_M / K_O \cdot 100\% \quad (1)$$

где: $\lambda\%$ - степень этерификации пектина;

K_M – количество метоксилированных карбоксильных групп, (%);

K_O – общее количество карбоксильных групп, (%).

Общее количество карбоксильных групп (K_O) – это величина, являющаяся суммой количества метоксилированных карбоксильных групп (K_M) и свободных карбоксильных групп (K_C) в %:

$$K_O = K_M + K_C \quad (2)$$

Массовую долю свободных карбоксильных групп (K_C) устанавливали методом титриметрического титрования. В соответствии с методикой, приведённой в литературе [7], [8] водный раствор исследуемого пектина (1 г – точная навеска) титровали 0,1 М раствором натрия гидроксида в присутствии индикатора Хинтона до исчезающего в течение минуты красного окрашивания. K_C рассчитывали по формуле:

$$K_C, \% = a/m \quad (3)$$

где a – количество 0,1 молярного раствора натрия гидроксида, израсходованного на титрование, мл, (1 мл 0,1 молярного раствора NaOH соответствует 0,0045 г COOH);

m – навеска пектина, г.

Далее в том же растворе определяли массовую долю этерифицированных групп K_E . К нейтрализованной пробе добавляли точный объем (10 мл) натрия гидроксида (0,5 моль/л), а по истечению 2-х часов – точный объем (10 мл) раствора кислоты хлористоводородной (0,1 моль/л). Избыток кислоты титровали раствором натрия гидроксида (0,1 моль/л). Расчёт K_E проводили по формуле 4:

$$K_E \% = b/m \quad (4)$$

где b – количество 0,1 молярного раствора натрия гидроксида, пошедшего на второе титрование, мл;

m – навеска пектина, г

Так как многие пектины содержат в своём составе не только метоксильные, но и ацетильные группы, также подвергающиеся гидролизу, проводили поправку на эти группы:

$$K_M = K_E - A_{ц} \quad (5)$$

где $A_{ц}$ – количество ацетильных групп, %

Массовую долю ацетильных групп в пектиновом веществе определяли дистилляционным методом в соответствии с методикой, описанной в литературе [8]. Использовали прибор, состоящий из парообразователя, дистилляционной колбы, холодильника Либиха и приёмника. Сначала исследуемое вещество подвергали гидролизу. Точную навеску пектиновых веществ помещали (1 г) в мерную колбу на 50 мл, добавляли 25 мл 0,6%-ного раствора гидроксида натрия и оставляли на 7 часов. По окончании указанного времени содержимое колбы доводили водой дистиллированной до метки. Полученный гидролизат – 20 мл, переносили в дистилляционную колбу и смешивали с равным объёмом раствора сульфата магния (100 г сульфата магния растворяли в воде дистиллированной до 180 мл и добавляли 1 мл концентрированной кислоты серной). Дистилляционную колбу нагревали до тех пор, пока объём раствора в ней не достигали 20 мл, после чего через колбу пропускали пар. В дистилляционной колбе постоянно поддерживали объём раствора 15 – 20 мл. Дистиллят объёмом 100 мл, содержащий уксусную кислоту, титровали раствором гидроксида натрия (0,1 моль/л) по фенолфталеину. Параллельно проводили такой же опыт с 20 мл раствора и 20 мл воды дистиллированной. Количество ацетильных групп рассчитывали по формуле 6:

$$K_{\text{ад}} = 43,04 * c / m_1 * 100 \quad (6)$$

где c – разность между количествами раствора гидроксида натрия (0,1 моль/л), пошедшего на титрование в опыте с навеской и без навески исследуемого вещества.

Процентное содержание метоксильных групп (CH_3O) вычисляли по формуле 7:

$$\text{CH}_3\text{O}, \% = K * (31/45) \quad (7)$$

где: K_m – содержание метоксилированных карбоксильных групп в порошке пектина, %;

31 – эквивалентный вес CH_3O - групп;

45 – эквивалентный вес COOH - групп.

Результаты и обсуждения

Результаты по количественному содержанию ВРПС и ПВ приведены в таблице.

Таблица 1 - Количественное содержание ВРПС и ПВ, в листьях ирги круглолистной

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.126.74.1>

| Фракция | Осенние листья, % от воздушно-сухого сырья | Весенние листья, % от воздушно-сухого сырья |
|---------|--|---|
| ВРПС | 0,16 | 0,1 |
| ПВ | 0,82 | 0,87 |

ВРПС – представляли собой аморфный порошок светло-коричневого цвета. Основные моносахариды, входящие в его состав – галактоза и ксилоза.

ПВ – светло-жёлтый аморфный порошок. Моносахаридный состав представлен галактуроновой кислотой и галактозой

Из данных таблицы следует, что листья ирги содержат небольшое количество как водорастворимых полисахаридов, так и пектиновых веществ. Причём осенние листья, собранные в начале сентября, по сравнению с листьями собранными в мае, содержат немного больше ВРПС и меньше ПВ, что в целом согласуется с результатами изучения динамики накопления полисахаридов для других растений [10].

Важной характеристикой пектиновых веществ является степень их этерификации. От этого показателя, например, зависят условия, в которых эти полисахариды образуют гели, а также их способность связывать в пищеварительном тракте тяжелые металлы [11].

Результаты, полученные при определении функциональных групп и степени этерификации исследуемого пектинового вещества, приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Содержание функциональных групп в пектиновом веществе, выделенного из весенних листьев ирги круглолистной

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.126.74.2>

| Наименование показателя | Обозначение | Функциональные группы, в % |
|--|-----------------|----------------------------|
| Свободные карбоксильные группы | K_c | 4,32 |
| Метоксилированные карбоксильные группы | K_m | 3,02 |
| Общее количество карбоксильных групп | $K_c + K_m$ | 7,34 |
| Ацетильных группы | $A_{\text{ц}}$ | 0,34 |
| Метоксильных группы | $-\text{OCH}_3$ | 2,08 |
| Степень метоксилирования | $(\lambda)\%$ | 41,14 |

Из представленных данных следует, что пектиновые вещества, выделенные из осенних листьев ирги круглолистной, имеют степень метоксилирования меньше 50%, следовательно, относится к низкоэтерифицированным.

Заключение

В результате проведённых исследований установлено что:

1) листья ирги круглолистной собранные в весеннее и осеннее время – в мае и начале сентября содержат ВРПС и ПВ, которые не отличаются по своему качественному составу, но немного отличаются по количественному выходу этих веществ;

2) доминирующими моносахаридами ВРПС являются галактоза и ксилоза, а доминирующими моносахаридами ПВ – галактуроновая кислота и галактоза.

3) степень метоксилирования пектиновых веществ, выделенных из весенних листьев, составляет 41,14 %, то есть по современной классификации относятся к низкоэтерифицированным (LM) пектинам.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Scarcity of Medicinal Plants: A Threat to Ayurveda-An Overview. — URL: https://www.researchgate.net/publication/355699872_Scarcity_of_Medicinal_Plants_A_Threat_to_Ayurveda-An_Overview (accessed 12.09.2022)
2. Ирга круглолистная. — URL: ecosystema.ru/nature/fruits/051.htm (дата обращения 12.09.2022)
3. Хромов Н. Ирга. «Королева задворков» / Н. Хромов // Садовник. — 2008. — 8
4. Степанова А.В. Эколого-биологическая оценка генофонда ирги (*Amelanchier Medik.*) при интродукции в условиях юго-запада ЦЧР: автореф. дис. канд. биол. наук: 06.01.05 / Степанова Анна Вячеславовна. — Рамонь, 2015. — 24 с.
5. Полезные свойства и противопоказания ирги. — URL: <https://zozh-style.ru/irga-poleznye-svoystva-i-protivopokazaniya.html> (дата обращения 12.09.2022)
6. Ирга круглолистная. — URL: <https://herbana.world/plant/irga-kruglolistnaya.html> (дата обращения 12.09.2022)
7. Ирга — полезные свойства и противопоказания. — URL: <https://vrachmedik.ru/565-irga-poleznye-svoystva-i-protivopokazaniya.html> (дата обращения 12.09.2022)
8. Тихомирова Т.И. Антиоксиданты листьев ирги круглолистной / Т.И. Тихомирова, О.А. Андреева, Н.М. Червонная [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. — 2021. — 12-1(114). — С. 193-199
9. Кочетков Н.К. Химия биологически активных соединений / Н.К. Кочетков. — М., 1970. — 631 с.
10. Карпович Н.С. Пектин. Производство и применение / Н.С. Карпович и др. — Киев: Урожай, 1989. — 89 с.
11. Позднякова Т.А. Количественное определение функциональных групп пектиновых веществ травы герани сибирской (*Geranium sibiricum*) / Т.А. Позднякова, Р.А. Бубенчиков // Фундаментальные исследования. — 2014. — 11-1. — С. 110-113.
12. Зорикова О.Г. Сезонная динамика содержания полисахаридов в сырье *Reynoutria Japonica* / О.Г. Зорикова, А.Ю. Маняхин, С.А. Боровая и др. // Химия растительного сырья. — 2018. — 3. — с. 33-39. — DOI: 10.14258/jcgrm.2018033777.
13. Оводов Ю.С. Современные представления о пектиновых веществах / Ю.С. Оводов // Биоорганическая химия. — 2009. — Т. 35. — 3. — с. 293-310.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Scarcity of Medicinal Plants: A Threat to Ayurveda-An Overview. — URL: https://www.researchgate.net/publication/355699872_Scarcity_of_Medicinal_Plants_A_Threat_to_Ayurveda-An_Overview (accessed 12.09.2022)
2. Irga kruglolistnaja [Round-leaved Iris]. — URL: ecosystema.ru/nature/fruits/051.htm (accessed: 12.09.2022) [in Russian]
3. Hromov N. Irga. "Koroleva zadvorkov" [Iris. "Queen of the Backyard"]. / N. Hromov // Sadovnik [Gardener]. — 2008. — 8 [in Russian]
4. Stepanova A.V. Jekologo-biologicheskaja ocenka genofonda irgi (*Amelanchier Medik.*) pri introdukcii v uslovijah jugo-zapada CChR [Ecological and biological evaluation of the gene pool of iris (*Amelanchier medik.*) during introduction in the southwest of the Central Chernobyl Region]: autoabst. dis. for PhD in Biological Sciences: 06.01.05 / Stepanova Anna Vjacheslavovna. — Ramon, 2015. — 24 p. [in Russian]
5. Poleznye svoystva i protivopokazaniya irgi [Useful Properties and Contraindications of Iris]. — URL: <https://zozh-style.ru/irga-poleznye-svoystva-i-protivopokazaniya.html> (accessed: 12.09.2022) [in Russian]
6. Irga kruglolistnaja [Round-leaved Iris]. — URL: <https://herbana.world/plant/irga-kruglolistnaya.html> (accessed: 12.09.2022) [in Russian]
7. Irga — poleznye svoystva i protivopokazaniya [Useful Properties and Contraindications of Iris]. — URL: <https://vrachmedik.ru/565-irga-poleznye-svoystva-i-protivopokazaniya.html> (accessed: 12.09.2022) [in Russian]
8. Tihomirova T.I. Antioksidanty list'ev irgi kruglolistnoj [Antioxidants in the Leaves of Round-leaved Iris] / T.I. Tihomirova, O.A. Andreeva, N.M. Chervonnaja [et al.] // Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal [International Scientific Research Journal]. — 2021. — 12-1(114). — P. 193-199 [in Russian]

9. Kochetkov N.K. Himija biologicheski aktivnyh soedinenij [Chemistry of Biologically Active Compounds] / N.K. Kochetkov. — M., 1970. — 631 p. [in Russian]
10. Karpovich N.S. Pektin. Proizvodstvo i primenenie [Production and Applications] / N.S. Karpovich et al. — Kiev: Urozhaj, 1989. — 89 p. [in Russian]
11. Pozdnjakova T.A. Kolichestvennoe opredelenie funkcional'nyh grupp pektinovyh veshhestv travy gerani sibirskoj (Geranium sibiricum) [Quantification of Functional Groups of Pectin Substances of Geranium sibiricum Grass] / T.A. Pozdnjakova, R.A. Bubenchikov // Fundamental'nye issledovanija [Fundamental Research]. — 2014. — 11-1. — P. 110-113. [in Russian]
12. Zorikova O.G. Sezonnaja dinamika sodержanija polisaharidov v syr'e Reynoutria Japonica [Seasonal Dynamics of Polysaccharide Content in the Raw Material of Reynoutria Japonica] / O.G. Zorikova, A.Ju. Manjahin, S.A. Borovaja et al. // Himija rastitel'nogo syr'ja [Chemistry of Raw Material]. — 2018. — 3. — p. 33-39. — DOI: 10.14258/jcprm.2018033777. [in Russian]
13. Ovodov Ju.S. Sovremennye predstavlenija o pektinovyh veshhestvah [Current Views on Pectin Substances] / Ju.S. Ovodov // Bioorganicheskaja himija [Bioorganic Chemistry]. — 2009. — Vol. 35. — 3. — p. 293-310. [in Russian]