

ПОЛИСАХАРИДЫ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ *ROEMERIA HYBRIDA* L.

Р. У. Мараимова¹, Ж. И. Жалолов¹, С. Ф. Арипова², Х. Х. Долимов¹

¹Ферганский государственный университет, Республика Узбекистан, 150100, Фергана, ул. Мураббийлар, 19. e-mail: hayotbekdolimov6272@gmail.com

²Институт химии растительных веществ АН РУз, Узбекистан, 170000, Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 77

Разработаны методы выделения и очистки полисахаридов из надземной части растительного сырья *Roemeria hybrida* L. семейства Papaveraceae. Установлено содержание полисахаридов в траве в качестве биологически активных компонентов, обуславливающих её противовоспалительную и абсорбирующую активность для нормализации желудочно-кишечных расстройств. Определены качественные и количественные характеристики полисахаридного комплекса, включающего водорастворимые полисахариды, полученные с выходом 2.4%, пектиновые вещества с выходом 4.8% и гемицеллюлозы с выходом 2.1%, по степени этерификации оказавшиеся высоко этерифицированными. Полосы поглощения инфракрасного спектра полисахарида указывают на присутствие в структуре α -гликозидных связей между остатками D-галактурановой кислоты.

Ключевые слова: *Roemeria hybrida* L., водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлозы, ИК спектроскопия.

Roemeria hybrida L. (*R. orientalis* Boiss.) – растение семейства Маковых (Papaveraceae) представляет собой однолетнее травянистое растение, высота которого колеблется в пределах 5-50 см. Лепестки *R. hybrida* L. – обратно-яйцевидные, окрашены в тёмно-фиолетовые тона, длина 10-25 мм [1].

Цветение данного растения приходится на период, начиная с апреля и заканчивая маем месяцем [2]. В природных условиях растение встречается на территории Средней Азии, Крыма и Кавказа. Для произрастания растение предпочитает каменистые и щебнистые склоны, каменистые и песчаные пустыни, а также выходы пестро-цветов в нижне-горном и предгорном поясе гор [3].

R. hybrida обладает весьма ценными целебными свойствами, с лечебной целью рекомендуется использовать листья и корни этого растения. Полезные свойства приписывают содержащимся в составе растения алкалоидам – ремеридина и протопина [4]. Растение обладает также весьма ценными бактерицидными, мочегонными,

вяжущими и противовоспалительными свойствами. *R. hybrida* в народной медицине получило довольно широкое использование [5]. Народная медицина рекомендует применять отвар, приготовленный на основе листьев и корней растения при кожной сыпи, оспе и мочекаменной болезни, а также в качестве эффективного вяжущего и мочегонного средства. Следует отметить, что водная вытяжка травы *R. hybrida* оказалась бактерицидной по отношению к кишечной палочке и стафилококку [6].

Целью настоящего исследования является изучение полисахаридного состава надземной части растения *Roemeria hybrida*, произрастающего в Узбекистане.

Для исследования 50,0 г измельченного воздушно-сухого сырья экстрагировали кипящим хлороформом в соотношении 1:8 в круглодонной колбе с обратным холодильником для удаления красящих и низкомолекулярных соединений. Экстракцию проводили трижды, после чего сырьё отделяли фильтрованием и высушивали [7].

Выделение и изучение спирторастворимых сахаров. Высушенное сырьё экстрагировали кипящим 82%-ным этанолом (1:10, 1:6) в круглодонной колбе с обратным холодильником. Экстракцию проводили дважды. Спиртовые экстракты объединяли, упаривали на роторном испарителе до небольшого объёма и хроматографировали на бумаге Filtrak-FN-13 в течение 18 часов нисходящим методом в системе растворителей бутанол-пиридин-вода (6:4:4) в сравнении с известными образцами моносахаридов. Для проявления гексозахаров хроматограммы проявляли кислым анилинфталатом и нагревали в сушильном шкафу при 105°C 2-3 мин. Для проявления кетозахаров использовали 5%-ный спиртовый раствор подкисленной мочевины с последующим нагреванием в сушильном шкафу при 105°C [8-9].

Выделение и изучение водорастворимых полисахаридов (ВРПС). Остаток сырья после выделения спирторастворимых сахаров экстрагировали дважды при гидромодуле 1:15, 1:10 (600, 500 мл воды) на водяной бане при 70-75°C, постоянно перемешивая. Каждый экстракт фильтровали через бязь под вакуумом, экстракты объединили, упаривали на роторном испарителе до 40 мл и осаждали спиртом (1:3). Выпавший осадок отделяли центрифугированием (5000 об/мин, 10 мин), высушивали и промывали спиртом. [10-11].

Гидролиз ВРПС. 100 мг выделенных ВРПС гидролизовали 3 мл раствора серной кислоты (1 моль/л) в запаянной ампуле в кипящей водяной бане в течение 8 ч при 100°C. По истечении указанного времени ампулу вскрывали, гидролизат помещали в стакан вместимостью 50 мл и нейтрализовали карбонатом бария. Образовавшийся при этом осадок отфильтровывали, фильтрат деионизировали катионитом КУ – 2(H*), упаривали до небольшого объёма (0,5 мл) и хроматографировали на бумаге Filtrak- FN-12,13 нисходящим методом в системе растворителей бутанол-пиридин-вода (6:4:3) с известными моносахаридами (свидетелями). Хроматограммы высушивали, проявляли кислым анилинфталатом с последующим нагреванием в сушильном шкафу при 100°C 1-2 мин. [12-13].

Выделение и изучение пектиновых веществ (ПВ). Остаток сырья после экстрагирования ВРПС обрабатывали дважды по 300 мл смесью 0,5%-ных растворов щавелевой кислоты и оксалата аммония (1:1) при гидромодуле (1:15, 1:10) при 70-75°C по 1 часу при перемешивании [14]. Полученные экстракты отделяли фильтрованием через бязь, объединяли и диализовали против проточной воды в течение 18 часов, затем упаривали на роторном испарителе до 50 мл и осаждали спиртом (200 мл). Выпавший осадок отделяли центрифугированием (5000 об/мин, 10 мин), осадок промывали спиртом и высушивали [15].

Гидролиз ПВ. 100 мг ПВ гидролизовали 3 мл раствора серной кислоты (2 моль/л) в ампуле на кипящей бане в течение 24 ч. Методика обработки гидролизата и его анализ описаны выше.

Выделение и изучение гемицеллюлоз. Гемицеллюлозы (ГМЦ) выделяли из остатка сырья (после экстрагирования ПВ) двукратной экстракцией 5%-ным раствором натрия гидроксида (1:10, 1:5) при комнатной температуре, постоянно помешивая в течение 2 часов [16]. Экстракты отделяли фильтрованием, объединяли, нейтрализовали 50 %-ным раствором уксусной кислоты, диализовали против проточной воды в течение 20 ч., затем упаривали и осаждали спиртом.

Гидролиз ГМЦ. 100 мг ГМЦ гидролизовали 3 мл раствора серной кислоты (2 моль/л) в ампуле в кипящей водяной бане в течение 48 ч [17]. Обработку гидролизата и его анализ проводили по методике, описанной выше.

Вязкость определяли по времени истечения 1%-ных растворов образцов в воде, в вискозиметре Оствальда, диаметр капилляра 0,73 мм, при температуре 27°±3°C.

Определение свободных карбоксильных групп (K_c). 0,25 г промытого и высушенного пектина растворяли в 100 мл очищенной воды, нагретой до 40°C. Растворяли 2 ч и титровали 0,1 н раствором натрия гидроксида с фенолфталеином до слабо-розовой окраски [18]. Содержание свободных карбоксильных групп COOH вычисляли по формуле:

$$K_c = \cdot 0.45\%,$$

где: а - количество 0,1 н раствора NaOH, израсходованное на титрование, мл;

р – навеска пектина и водорастворимого полисахарида, г [19].

Этерифицированные карбоксильные группы (K_э) определяли следующим образом. К пробе, нейтрализованной при определении свободных карбоксильных групп, прибавляли точно 50 мл 0,1н раствора натрия гидроксида, закрывали колбу и оставляли на 2 ч при комнатной температуре для омыления метоксилированных COOH групп. Затем вносили точно 50 мл 0,1н раствора HCl и избыток его оттитровывали 0,1н раствором NaOH. Количество 0,1н раствора NaOH, затраченное на второе титрование, соответствовало количеству этерифицированных COOH в исследуемой пробе:

$$K_3 = \frac{B}{p} \cdot 0.45\%,$$

где: В - количество 0,1н раствора NaOH, необходимое для второго титрования, мл;
р - навеска промытого пектина и водорастворимого полисахарида, в г.

Общее количество карбоксильных групп (K_о) равно сумме свободных и этерифицированных групп [20]:

$$K_о = K_с + K_3, \%$$

Степень этерификации пектина (λ) показывает количество этерифицированных карбоксильных групп в процентах от всех карбоксильных групп [21]:

$$\lambda = \frac{K_э}{K_о} \cdot 100 \%$$

Таблица 1. Титриметрические показатели *R. hybrida*

| ПС | K _с | K _э | K _о | λ, % | η _{отн} (1% H ₂ O) |
|------|----------------|----------------|----------------|-------|--|
| ВРПС | 5.22 | 18.18 | 23.4 | 77.69 | 2.64 |
| ПВ | 4.86 | 17.46 | 22.32 | 78.2 | 3.93 |

ВРПС и ПВ представляют собой аморфные порошки, хорошо растворимые в воде.

Пектиновые вещества представляли собой белые порошки с кремоватым оттенком, характеризуются высоким содержанием арабинозы и глюкозы [22]. В гидролизатах пектиновых веществ, наряду с нейтральными моносахаридами, присутствовала галактуроновая кислота, и по данным титриметрического анализа ПВ являются высокоэтерифицированными (табл. 1).

Анализ выделенных полисахаридов методом ИК спектроскопии. ИК спектры полисахаридов снимали на ИК спектрометре Фурье фирмы Perkin-Elmer, FT-IR/NIR Spectrometr. Spectrum 3. Universal ATR Sampling Accessory, области поглощения в диапазоне 530-3600 см⁻¹ [11].

ГХ анализ образцов проводили на хроматографе Shimadzu GC-2010 с пламенно-ионизационным детектором, кварцевая капиллярная колонка Shimadzu Rxi-624Sil MS (30мх0.25ммх1.40мкм), скорость подвижной фазы (N₂) 1.5 мл/мин, температура инжектора 260°C, температура детектора 280°C и температура колонки 230°C. Образцы снимали в виде ацетатов альдононитрилов [12].

В результате проведенного исследования установлено, что спирторастворимые сахара надземной части *R. hybrida* (L) представлены гексозой – глюкозой (коричневое пятно с R_f=0,36), кетосахарами фруктозой и сахарозой (пятна синего цвета с R_f=0,60 и 0,46 соответственно).

Выход водорастворимых полисахаридов (ВРПС) надземной части *R. hybrida* составил 2.4 г (2.4 %). ВРПС представляют собой аморфные порошки светло бежевого цвета, хорошо растворимые в воде. Моносахаридные составы ВРПС качественно резко

не отличались, но разница была в количественном соотношении. Основные моносахариды ВРПС - *Glu*, *Ara* и *Gal*, другие моносахариды представлены в меньших количествах. Соотношение моносахаридов позволяет считать, что основу ВРПС составляют гетерогенные полисахариды с присутствием как глюканов, так и глюкоарабинанов [23-24].

ПВ представляют собой аморфный порошок кремового цвета, хорошо растворимый в воде. Раствор ПВ дает с парами йода едва заметное быстро исчезающее синее окрашивание. Выход ПВ составил 4.8 г (4.8%).

Показано, что моносахаридный состав пектиновых веществ представлен галактуроновой кислотой ($R_f=0,14$), галактозой ($R_f=0,37$), глюкозой ($R_f=0,36$) арабинозой ($R_f=0,48$), в незначительных количествах (хроматографические зоны были нечёткие и имели слабую окраску), ксилозой ($R_f=0,56$).

Выход ГМЦ составил 2.1 г (2.1%). Гемицеллюлозы представляют собой аморфный порошок коричневого цвета, плохо растворимый в воде, хорошо растворимый в разбавленных щелочах.

В результате хроматографического анализа в составе гемицеллюлоз установлено наличие глюкуроновой кислоты ($R_f=0,14$), галактозы ($R_f=0,37$), глюкозы ($R_f=0,36$) арабинозы ($R_f=0,48$), ксилозы ($R_f=0,56$), и рамнозы ($R_f=0,67$).

В таблице 2 обобщены данные по количественному содержанию и моносахаридному составу выделенных полисахаридов.

Таблица 2. Содержание различных групп полисахаридов *R. hybrida* и их моносахаридный состав

| № | Тип углеводов | Выход, % | Моносахаридный состав | | | | | | UAc |
|-----------------|---------------|----------|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | Gal | Glc | Ara | Man | Xyl | Rha | |
| Надземная часть | ВРПС | 2.4 | 2.5 | 4.5 | 2.5 | - | 1.0 | - | - |
| | ПВ | 4.8 | 1.5 | 1.5 | 6.0 | 1.0 | 1.0 | - | + |
| | ГМЦ | 2.1 | 1.0 | 1.0 | 4.0 | - | 3.0 | 1.0 | + |

Примечание: ВРПС - водорастворимые полисахариды, ПВ - пектиновые вещества, ГЦ - гемицеллюлозы, Gal - галактоза, Glc - глюкоза, Ara - арабиноза, Xyl - ксилоза, Rha - рамноза, GalUA - галактуроновая кислота.

Как видно из таблицы 2, в надземной части растения ПВ являются доминирующими полисахаридами, содержание их составляет 4.8% (от воздушно сухого сырья), в которых основными моносахаридами является галактоза, глюкоза, арабиноза.

ПВ и ГМЦ также характеризуются повышенным содержанием арабинозы и ксилозы. Это является характерным для ГМЦ, основу которых составляют ксиланы.

В ВРПС, выделенных из надземной части растения, преобладающими моносахаридами являются арабиноза, глюкоза и в малых количествах галактоза, в ПВ -

глюкоза, арабиноза, галактоза. Моносахаридный состав ГМЦ характеризуется основными сахарами - ксилозой, арабинозой.

Следует отметить, что во всех образцах присутствует достаточное количество глюкозы, арабинозы, ксилозы.

Анализ ИК спектров веществ

Водорастворимые полисахариды ВРПС

В ИК спектре ВРПС в области 3279 см^{-1} присутствует широкая интенсивная полоса поглощения, соответствующая свободным гидроксильным группам и их участию в образовании системы водородных связей. Интенсивная узкая полоса при 2988 см^{-1} отвечает валентным колебаниям (симметричные) групп СН.

Полосы поглощения в области 1575 и 1409 см^{-1} соответствуют С=О связи в карбоксианионе (СОО⁻) и колебаниям сложноэфирных групп (1198 см^{-1}).

Остальные полосы поглощения в ИК спектре при 1200 - 1080 см^{-1} характеризуют ряд функциональных групп -СН, С-О-С, ОН, С-С, С-О.

Ряд малоинтенсивных полос, начиная с 879 см^{-1} , характеризует β-гликозидные связи.

ИК спектры Пектиновых веществ

В ИК спектре ПВ имеется характерная широкая полоса поглощения ОН групп в области 3229 - 2977 см^{-1} и полосы поглощения симметричных и несимметричных СН групп. Полосы поглощения, характерные для карбокси полисахаридов, проявляются при 1591 см^{-1} (СОО⁻), полоса поглощения при 1410 см^{-1} соответствует ионизированной карбоксильной группе, связанной с металлами.

На наличие этерифицированных -СН₃ групп указывает полоса поглощения при 1326 см^{-1} . Колебания сложноэфирных групп проявляются в области 1241 и 1142 см^{-1} . Фрагменты пиранозных колец -С-С-О, С-ОН и т.д. проявляются в виде полос поглощения при 1014 см^{-1} .

Для ПВ характерна α-гликозидная связь между остатками уроновых кислот, что хорошо проявляется интенсивной полосой поглощения при 880 см^{-1} . Другие полосы поглощения, которые присутствуют в ИК спектре в его низкочастотной области, начиная с 771 и 953 см^{-1} , характеризуют α- и β-гликозидные связи. Полоса поглощения при 632 см^{-1} свидетельствует о наличии β-гликозидной связи для боковых ответвлений в макромолекулах ПВ.

Таким образом, анализ ИК спектров выделенных полисахаридов даёт информацию о типе полисахарида (кислый или нейтральный), о наличии гликозидных связей. Анализ ИК спектров полисахаридов также даёт информацию о наличии сложноэфирных групп, металлов, типе гликозидных связей. Всё это дополняет данные химического анализа полисахаридов.

При анализе ИК спектра гемицеллюлозы (ГМЦ) отмечается широкая интенсивная полоса поглощения при 3267 см^{-1} , а также малоинтенсивная полоса

поглощения при 2971 и 2923 см⁻¹, соответствующая деформационным симметричным и несимметричным колебаниям СН групп. Полоса поглощения в области 1616 и 1404 см⁻¹ указывает на ионизированный карбоксил (COO⁻). Обычно в гидролизате ГМЦ почти всегда присутствуют уроновые кислоты.

Полоса поглощения при 1315 см⁻¹ связана с колебаниями гидроксильных групп. Наличие пиранозных моносахаридов, составляющих ГМЦ, отражается полосами поглощения в области 1041 см⁻¹. Полосы поглощения в низкочастотной области 777, 880 см⁻¹ свидетельствуют о наличии α- и β-гликозидных связей в молекуле полисахарида [25].

Выводы. Таким образом, впервые нами изучен углеводный комплекс надземной части растения *Roemeria hybrida* флоры Узбекистана. В результате исследования установлено наличие спирторастворимых сахаров, водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ и гемицеллюлоз, определены их качественные и количественные характеристики. Изучены ИК спектры полисахаридов, указывающие на присутствие в них α-гликозидных связей между остатками D-галактурановой кислоты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попов М.Г. Род 555. Ремерия — *Roemeria Medic.* // *Флора СССР*: М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1937, Т. 7, С. 596-598; Т. XXVI, с. 792
2. Platonova TF, Massagetov PS, Kuzovkov AD, Utkin LM. *Zh Obshch Khim* 1956; 26:173
3. *Roemeria hybrida* (L.) DC. // *Плантариум*. Растения и лишайники России и сопредельных стран: открытый онлайн атлас и определитель растений [Электронный ресурс] URL: <https://www.plantarium.ru/page/view/item/32091.html>
4. Slavik, J., Dolejs, L., Slavikova, L. (1974). On alkaloids from *Roemeria hybrida* (L.) DC. // *Collec. Czech. Chem. Commun.*, 39, 888-894
5. Aripova S.F., Jalolov I.J., Maraimova U.R., Begmatova G.N. Component composition of essential oil *Roemeria hybrida* growing in Uzbekistan //DOI-10.32743/UniChem.2021.88.10.12334
6. Ермаков А.И., Арасимович В.В. 1982. В кн.: Методы биохимического исследования растений. М. с. 430
7. Методы химии углеводов под. ред. Н.К. Кочеткова, Москва, Мир, 1967, с. 261-262
8. Сиддикова А.А., Маликова М.Х., Рахманбердыева Р.К. Полисахариды *Scutellaria adenostagia* // *Узбекский биологический журнал*, 2017. -№ 4, с. 78-81
9. Путырский И.Н., Прохоров В.Н. Универсальная энциклопедия лекарственных растений. М., 2000. С.?
10. Птушова И.В., Коновалов Д.А., Карпенко В.А., Лигай Л.В., Кулешова С.А. Фитохимическое и фармакогностическое изучение корней подсолнечника однолетнего // *Химия растительного сырья*. 2014. С.?
11. Азизов А.Д., Рахманбердыева Р.К., Маликова М.Х. «Полисахариды надземной части *Ferula tenuisecta*» // *Химия природных соединений*. № 4. С. 517-520 (2021)

12. Рахманбердиева Р.К., Кристалович Э.Л., Абдуллаев Н.Д. Полисахариды *Cardaria repens* и изучение их ИК спектров // *Химия природных соединений*. -Ташкент, 1995. -№ 2. -С. 202-205
13. Rakotoarivelo N.H., Rakotoarivony F., Ramarosandratana A.V. Medicinal plants used to treat the most frequent diseases encountered in Ambalabe rural community, Eastern Madagascar // *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2015. Vol. 11
14. Лукашов Р.И., Жах А.В., Жаврид А.В. Антирадикальный эффект извлечений из подсолнечника однолетнего // *Вестник Башкирского государственного медицинского университета*. 2019. С.25
15. Кросс А., Введение в практическую инфракрасную спектроскопию, пер. с англ., М., 1961
16. Беллами Л., Инфракрасные спектры молекул, пер. с англ., М., 1957
17. Ярославский Н. Г., Методика и аппаратура длинноволновой инфракрасной спектроскопии, «Успехи физических наук», 1957, т. 62, в. 2
18. Чулановский В. Применение спектроскопии в химии, пер. с англ., М., 1959
19. Polyakova N.S., Rakhimov D.A., Kondratenko E.S. // *Chem. Nat. Comp.* 1984. V. 20. P. 612-614
20. Rakhimov D.A., Kondratenko E.S., Khamidkhodzhaev S.A. // *Chem. Nat. Comp.* 1983. Vol. 19. P. 601-602
21. Senni K., Pereira J., Gueniche F., Delbarre-Ladrat C., Siquin C., Ratiskol J., Godeau G. // *Marine Drugs*. 2011. Vol. 9. Pp. 1664-1681.
22. Coviello T., Palleschi A., Grassi M., Matricardi P., Bocchinfuso G., Alhaique F. // *Molecules*. 2005. Vol. 10. Pp. 6-33.
23. Turdumambetov K., Bakirov G.A., Rakhimov D.A. // *Chem. Nat. Comp.* 2004. Vol. 40. Pp. 211-214.
24. Dzhumamuratova A., Seitmuratov E., Rakhimov D.A., Ismailov Z.F. // *Chem. Nat. Comp.* 1979. Vol. 14. Pp. 437.
25. Zhao J.-F., Kiyohara H., Yamada H., Takemoto N., Kawamura H. // *Carbohydr. Res.* 1991. Vol. 219. Pp. 149-172.
26. Zhu H., Zhang Y., Zhang J., Chen D. // *Int. Immunopharmacol.* 2008. Vol. 8. Pp. 1222-1230.