

УДК 577.114:581.192:543. 422. 25

ПЕКТИНОВЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ КОРНЕЙ ОДУВАНЧИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО *TARAXACUM OFFICINALE* WIGG.

¹Тигунцева Н.П., ²Каницкая Л.В., ¹Евстафьев С.Н., ¹Ушаков И.А.

¹ФБГОУ ВПО «Национальный исследовательский Иркутский государственный
технический университет», e-mail: esn@istu.edu;

²ФБГОУ ВПО «Байкальский государственный университет экономики и права»,
Иркутск, e-mail: kanlv@mail.ru

Из корней одуванчика лекарственного *Taraxacum officinale* Wigg-последовательной экстракцией водой и водным раствором оксалата аммония и щавелевой кислоты выделены фракции полисахаридов ПС-1 и ПС-2. Исследована зависимость их выхода от температуры. Полученные при 100°C фракции исследованы комплексом физико-химических методов. Установлено, что основными компонентами фракции ПС-1 являются фруктаны (и/или глюкан). В составе гидролизата фракции ПС-1 обнаружены арабиноза, ксилоза, галактоза, глюкоза и в минорном количестве манноза. Доминирующим моносахаридом является глюкоза с содержанием более 70% от суммы моносахаридов, на долю остатков галактуроновой кислоты приходится около 16% масс. Фракция ПС-2 с выходом 9,4% может быть отнесена к пектиновым полисахаридам с содержанием остатков α-1,4-связанной D-галактопиранозилуруновой кислоты 41,9% масс. В их составе обнаружены боковые цепи, образованные с участием α-L-арабинофуранозы, а также остатки глюкозы, ксилозы и галактозы.

Ключевые слова: полисахариды растений, *Taraxacum officinale* Wigg., пектиновые полисахариды, моносахариды, количественная спектроскопия ЯМР ¹³C

PECTIN POLYSACCHARIDES FROM ROOTS OF THE DANDELION MEDICINAL *TARAXACUM OFFICINALE* WIGG.

¹Tiguntseva N.P., ²Kanitskaya L.V., ¹Evstafiev S.N., ¹Ushakov I.A.

¹National research Irkutsk state technical university, Irkutsk, e-mail: esn@istu.edu;

²Baikal national university of economics and law academic departments, Irkutsk, e-mail: kanlv@mail.ru

Polysaccharides fractions PS-1 and PS-2 were isolated from the roots of the dandelion *Taraxacum officinale* Wigg by sequential extraction with water and an aqueous solution of ammonium oxalate and oxalic acid. Their yield dependence of the temperature was studied. The fractions at 100°C obtained were investigated by complex of physicochemical methods. The main components of PS-1 fraction are fructans (and/or) glucan. Arabinose, xylose, galactose, glucose and mannose in a minor amount were detected in PS-1 fraction hydrolyzate. Glucose predominates and its amount was found to be more than 70% of monosaccharides; galacturonic acid residues forms about 16% by weight. The fraction was 9,4% yield; it can be attributed to pectic polysaccharides containing 41,9% of α-1,4-linked D-galactopyranosyluronic acid residuals by weight. Side chains formed with α-L-arabinofuranose and glucose, as well as xylose and galactose residues were detected in their composition.

Keywords: polysaccharides of plants, *Taraxacum officinale* Wigg., pectin polysaccharides, monosaccharides, quantitative ¹³C NMR spectroscopy

В настоящее время приоритетными являются исследования выхода, состава и свойств пектиновых веществ из нетрадиционного растительного сырья. Одуванчик лекарственный является перспективным сырьем для получения функциональных биологически активных веществ, так как все части этого полезного растения – и корни, и листья, и цветки – имеют целебные свойства [7]. Изучение пектиновых веществ в связи с их ценными физико-химическими свойствами и высокой физиологической активностью [4] позволяет значительно расширить области их практического использования, что является актуальной задачей.

Целью работы являлось выделение пектиновых полисахаридов из корней одуванчика лекарственного *Taraxacum officinale* Wigg. и установление их структуры.

Экспериментальная часть

В работе использовали воздушно-сухие, измельченные до крупности 1–5 мм образцы корней одуван-

чика лекарственного, собранного в июне до цветения в Иркутском районе.

Для выделения пектиновых полисахаридов использована 2-стадийная обработка корней одуванчика при температурах 25, 70 и 100°C. На первой стадии образец одуванчика трехкратно экстрагировали свежими порциями дистиллированной воды при указанных температурах. Гидромодуль – 1:10, продолжительность каждой обработки – 2 часа. Водные экстракты объединяли, концентрировали под вакуумом до 1/20 от первоначального объема. Из полученного концентрата обработкой этанолом при комнатной температуре [1] осаждали пектиновые полисахариды (ПС-1). Осадок отделяли фильтрованием, промывали последовательно этанолом, диэтиловым эфиром и сушили при 60°C до постоянной массы.

На второй стадии твердый остаток после экстракции водой трижды обрабатывали смесью 0,5%-го водного раствора оксалата аммония и 0,25%-го водного раствора щавелевой кислоты в соотношении 1:1 (рН = 4) в течение 3 ч при соответствующей температуре и постоянном перемешивании [2]. Экстракт после фильтрования концентрировали до 1/20 от первоначального объема. Из полученного концентрата

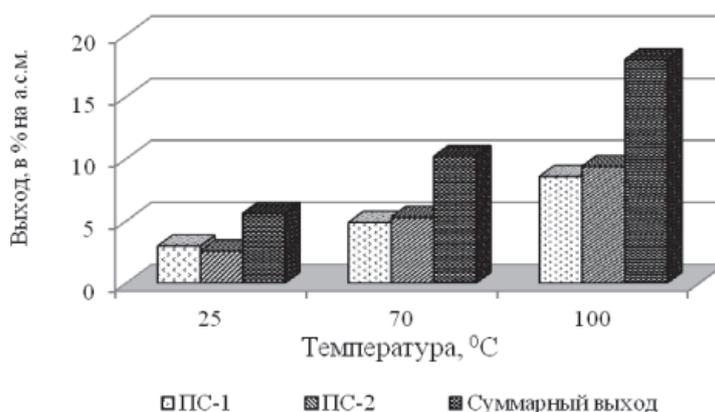
вышеописанным методом выделяли пектиновые полисахариды (ПС-2).

Кислотный гидролиз полисахаридов осуществляли 2 М раствором трифторуксусной кислоты [2]. Состав гидролизатов определяли на хроматографе 7820 А с селективным масс-спектрометрическим детектором HP 5975 фирмы «Agilent Technologies» [2], количественные спектры ЯМР ^{13}C регистрировали на спектрометре ЯМР фирмы «Bruker» с рабочей частотой 62,8 МГц с шумовой развязкой от протонов и шириной спектров 20–30 кГц после 5000 проходов. Шумовая развязка выключалась во время релаксационной задержки, которая составляет 10 с, ширина импульса – 90°, параметр уширения линий при экспоненциальном умножении – 10 Гц. Для регистрации спектра использовали раствор пектиновых веществ в D_2O . Спектры регистрировали при температуре 25 °С. Расчеты содержания углеводов, функциональных групп и элементного состава по спектру ЯМР осуществляли, используя фрагментный анализ [3], относительная погрешность составляет 7,5%. Элементный состав определяли на элементном анализаторе Vario micro Cube Elementar.

Результаты исследования и их обсуждение

Корни одуванчика характеризуются относительно высоким содержанием водорастворимых соединений, выход которых повышается с увеличением температуры на первой и на второй стадиях обработки. При 25 °С их выход на первой стадии составил 34,8%, а при 100 °С – 39,6% на абсолютно сухую массу корней одуванчика. На второй стадии при 25 °С дополнительно извлечено 11,5% водорастворимых соединений. При 100 °С суммарный выход водорастворимых соединений достиг 65,6%.

Повышение температуры обработки корней одуванчика способствует увеличению выхода пектиновых полисахаридов (рисунок). Их суммарный выход при 100 °С составил 18%, что в 1,5 раза ниже суммарного выхода пектиновых полисахаридов из наземной части одуванчика [7].



Зависимость выхода пектиновых полисахаридов от температуры

Для компонентов фракций полисахаридов, выделенных при 70 °С с близким выходом на первой и второй ступени, характерна относительно высокая насыщенность водо-

родом (табл. 1). С повышением температуры значения $(\text{H/C})_{\text{ар}}$ для фракций снижаются. Независимо от температуры повышенную зольность имеют полисахариды фракции ПС-1.

Таблица 1

Элементный состав пектиновых полисахаридов корней одуванчика*

Образец	Температура, °С	Элементный состав, в % на орг. массу				$(\text{H/C})_{\text{ар}}$	$(\text{O/C})_{\text{ар}}$	Зола, в %
		C	H	N	O _d			
ПС-1	70	41,1	7,1	1,0	50,8	2,07	0,93	5,4
	100	42,2 (45,8)	6,4 (6,5)	0,7	50,7 (47,7)	1,82 (1,7)	0,90 (0,78)	4,9
ПС-2	70	32,1	7,2	2,9	57,5	2,69	1,34	2,3
	100	39,8 (40,6)	6,6 (6,2)	3,1	50,5 (53,3)	1,99 (1,8)	0,95 (0,96)	3,7

Примечание.* Значения в скобках рассчитаны по количественным спектрам ЯМР ^{13}C .

Результаты исследования состава гидролизата фракции ПС-1, выделенной при 100 °С, методом ГХ-МС свидетельствуют о том, что в состав исследуемых полисахаридов входят в основном остатки моносахаридов: арабинозы, ксилозы, галактозы, глюкозы и в минорном количестве маннозы (табл. 2). Доминирующим моносахаридом является глюкоза с содержанием более 70% от суммы моносахаридов.

Высокое содержание глюкозы можно объяснить присутствием в составе фракции в качестве основных компонентов глюкана и/или фруктанов, гидролиз которых сопровождается изомеризацией фруктозы в глюкозу. Незначительное содержание в гидролизате остатков галактуроновой кислоты и рамнозы указывает на примесный характер пектиновых полисахаридов фракции ПС-1.

Таблица 2

Состав гидролизатов полисахаридов* корней одуванчика

Образец	GalA	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	Rha
ПС-1	16,4	14,9	2,3	0,3	6,7	59,3	Сл.
ПС-2	31,0	31,1	1,0	0,1	12,2	6,2	2,1

Примечание. * выделены при 100 °С.

По данным количественной ЯМР ¹³С, основным углеводом фракции ПС-1 является α-фруктоза – около 90% масс., положение сигналов атомов углерода которой приведены в табл. 3. Кроме небольших количеств галактуроновой кислоты (фрагменты →4)-α-D-GalpA-(1→ и →4-α-D-GalpA (1→2)) в исследованной фракции присутствуют в малых концентрациях β-фруктоза и α-D-глюкоза.

Качественный состав гидролизата фракции ПС-2 аналогичен, но доминирующими компонентами среди моносахаридов является арабиноза и галактоза, их соотношение

составляет 2,7:1 (табл. 3). Суммарное содержание моносахаридов – около 53%. Такое содержание остатков арабинозы значительно превышает ее содержание в пектиновых полисахаридах большинства растений, что встречается крайне редко, например, в полисахаридах арганового дерева [8]. Спектр ЯМР ¹³С фракции ПС-2 корней указывает на присутствие в углеводной цепи пектиновых полисахаридов α-1,4-связанных остатков D-галактопиранозилуроновой кислоты. Выявлен фрагмент →4)-α-D-GalA-(1→, который дает сигнал аномерного углеродного атома при 100,0 м.д. (табл. 4).

Таблица 3

Отнесение сигналов в спектрах ЯМР ¹³С фракции ПС-1 [3, 4, 6, 10, 11]

Углеводный остаток	Химические сдвиги атомов углерода углеводов, м.д.					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
α-Frc	61,0	103,5	77,2	74,5	81,3	62,4
β-Frc	63,6	98,0	76,5	69,7	69,3	64,0
α-D-Glc	92,7	72,6	72,8	69,9	-	61,4
→4)-α-D-GalpA-(1→	98,3	69,3	69,7	75,5	72,8	174,9
→4-α-D-GalpA (1→2)	98,1	69,5	69,9	77,4	72,6	174,1

Таблица 4

Отнесение сигналов в спектрах ЯМР ¹³С пектиновых полисахаридов фракции ПС-2 [3, 4, 6, 10, 11]

Углеводный остаток	Химические сдвиги атомов углерода углеводов, м.д.						
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	ОСН ₃
α-L-Araf-(1→3)	108,4	82,2	77,6	84,4	62,1	-	-
→4)-α-D-GalpA-(1→	100,0	69,0	71,9	79,1	71,8	174,3	-
	100,3	69,1	69,5	78,8	71,6	176,3	-
→4-α-GalpA (OMe)	101,4	69,2	69,3	81,9	71,9	171,7	53,9

Положение сигналов остальных атомов углерода остатков D-галактуроновой кислоты соответствует таковому для ЯМР ^{13}C спектров α -1,4-D-галактопиранозилуранана [9]. Присутствие в пектиновых полисахаридах корней одуванчика этерифицированных карбоксильных групп (COOMe) подтверждается соответствующими минорными сигналами 171,7 (COOMe) и 53,9 м.д. (OCH₃), степень метилирования составляет 0,42. Пектиновые полисахариды фракции ПС-2 содержат боковые цепи, образованные с участием α -L-арабинофуранозы. Учитывая незначительное содержание рамнозы в гидролизате, макромолекула полисахарида характеризуется низкой степенью раз-

ветвленности. Соотношение углеводных остатков Ara β :GalA составляет 1:4,3.

Данные ЯМР-спектроскопии подтверждают присутствие в составе исследуемых фракций ПС-1 и ПС-2 остатков нейтральных моносахаридов. Согласно данным табл. 5, наиболее заметно их присутствие во фракции ПС-1. Ацетильные группы обнаружены только во фракции ПС-2.

По методике, описанной в работе [3], с учетом стехиометрических соотношений, данных фрагментного состава (табл. 5) и по элементному составу, полученному по спектрам ЯМР ^{13}C (табл. 1), рассчитано содержание основных углеводов и функциональных групп во фракции ПС-2 (табл. 6).

Таблица 5

Относительное содержание атомов углерода в пектиновых полисахаридах

Фрагмент	Содержание в долях (q)		Диапазон интегрирования, химические сдвиги (ХС) м.д., отнесение сигналов [3,5-7,10,11]
	ПС-1	ПС-2	
C(O)OH	0,031	0,064	177–172; атомы углерода карбоксильных групп
CH ₃ C(O)O	0,000	0,008	175,4; атомы углерода ацетильных групп*
C(O)OCH ₃	0,021	0,047	172–170; атомы углерода сложноэфирных групп
C-1	0,156	0,142	105–95; аномерные атомы углерода углеводов
CH–OH	0,384	0,569	85–66; атомы C-2, C-3, C-4, C-5 углеводов
CH ₂ –OH	0,256	0,027	64–58; атомы углерода C-6 углеводных колец
–OCH ₃	0,21	0,040	62–61; 52–54; атомы углерода метоксильных групп
–CH ₃	0,000	0,008	22–19; атомы углерода метильных групп ацетильного фрагмента
–CH ₂ –CH ₃	0,000	0,032	58,4 и 18,2 узкие резонансные сигналы CH ₂ и CH ₃ – групп этилового спирта C ₂ H ₅ OH

Примечание.*в спектре ЯМР ^1H образца ПС-1 наблюдаются сигналы атомов водорода фрагмента CH₃ ацетильных групп с ХС 1,93 и 2,3 м.д.

Таблица 6

Содержание функциональных групп и углеводных остатков во фракции ПС-2, в % масс

Образец	Углеводы		Функциональные группы			
	α -GalAp	α -L-Araf	C(O)OH	C(O)OCH ₃	CH ₃ C(O)O	OCH ₃
ПС-2	41,9	13,4	10,2	9,82	15,9	5,2

По данным ЯМР ^{13}C содержание галактуроновой кислоты во фракции ПС-2 примерно на 11% выше в сравнение с результатами анализа методом ГХ-МС. Около 42% карбоксильных групп галактуроновой кислоты этерифицировано.

Заключение

В результате проведенного исследования из корней одуванчика выделены две фракции полисахаридов, одна из которых (ПС-2) с выходом 9,4% может быть отнесена к пектиновым полисахаридам с содержанием остатков α -1,4-

связанной D-галактопиранозилурановой кислоты 41,9% масс. Для протопектина корней одуванчика характерна относительно низкая разветвленность основной углеводной цепи. В ее составе обнаружены боковые цепи, образованные с участием α -L-арабинофуранозы, а также остатки глюкозы, ксилозы и галактозы. Основными компонентами фракции ПС-1 являются фруктаны (и/или глюкан). Пектиновые полисахариды присутствуют во фракции в виде примеси, содержание остатков галактуроновой кислоты не превышает 16,4% масс.

Список литературы

1. Донченко Л.В. Технология пектина и пектинопродуктов: учеб. пособие. – М.: ДеЛи, 2000. – 251 с.
2. Иванова Н.В., Попова О.В., Бабкин В.А. Изучение влияния различных факторов на выход и некоторые характеристики пектиновых веществ коры лиственницы // Химия растительного сырья. – 2003. – № 4. – С. 43–46.
3. Калабин Г.А., Каницкая Л.В., Кушнарев Д.Ф. Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки – М.: Химия, 2000. – 408 с.
4. Оводов Ю.С. Современные представления о пектиновых веществах // Биоорганическая химия. – 2009. – Т.35, № 3. – С. 293–310.
5. Выделение и исследование полисахаридов из смолёвки обыкновенной *silene vulgaris* / Р.Г. Оводова, О.А. Бушнева, А.С. Шашков, Ю.С. Оводов // Биоорганическая химия. – 2000. – Т. 26. – № 9. – С. 686 – 692.
6. Выделение и предварительное исследование строения и физиологической активности водорастворимых полисахаридов из шрота ягод калины обыкновенной *Viburnum opulus* / Р.Г. Оводова, В.В. Головченко, С.В. Попов, А.С. Шашков, Ю.С. Оводов // Биоорганическая химия. – 2000. – Т.26, № 1. – С. 61–67.
7. Тигунцева Н.П., Каницкая Л.В., Евстафьев С.Н. Состав водорастворимых соединений надземной части одуванчика лекарственного *Taraxacum officinale* // Известия Вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2011. – № 1. – С. 71–75.
8. Aboughe-Angone S., Nguema-Ona E., Ghosh P., Lerouge P., Ishii T., Ray B., Driouich A. // Carbohydr. Res. – 2008. – Vol. 343. – P. 67–72.
9. Catoire L., Goldberg R., Pierron M., Morvan C., Herve du Penhoat C. // Eur. Biophys. J. – 1998. – Vol. 27. – P. 127–136.
10. Marcon M.V., Carneiro P.I.B., Wosiacki G., Beleski-Carneiro E. // Ann. Magn. Reson. – 2005. – Vol. 4, Issue 3. – P. 56–63.
11. Wang X.-S., Dong Q., Zuo J.-P., Fang J.-N. Structure and potential immunological activite of a pectin from *Centella asiatica* (L.) Urban // Carbohydr. Research. – 2003. – Vol. 338. – P. 2393–2402.

References

1. Donchenko L.V. Tehnologija pektina i pektinoproduktov: ucheb. Posobie, M., DeLi, 2000. 251 p. [Donchenko L.V. Technology pectin and pectin products: textbook – M. DeLee, 2000. 251 p.]
2. Ivanova N.V., Popova O.V., Babkin V.A. Izuchenie vlijaniya razlichnyh faktorov na vyhod i nekotorye harakteristiki pektinovyh veshhestv kory listvennicy / Himija rastitel'nogo syr'ja. 2003. no 4. pp. 43–46. [Ivanova N.V., Popova O.V., Babkin V.A. The study of the influence of various factors on the yield and some characteristics of pectin larch bark / Chemistry of plant raw materials. 2003. no 4. pp. 43–46].
3. Kalabin G.A., Kanickaja L.V., Kushnarev D.F. Kolichestvennaja spektroskopija JaMR prirodnoho organicheskogo syr'ja i produktov ego pererabotki, M., Himija, 2000. 408 p.

[Kalabin G.A., Kanitskaya L.V., Kushnarev D.F. Quantitative NMR spectroscopy of natural organic raw materials and by-products – M.: Chemistry, 2000. 408 p.]

4. Ovodov Ju.S. Sovremennye predstavlenija o pektinovyh veshhestvah / Bioorganicheskaja himija. 2009. Vol.35, no 3. pp. 293–310. [Ovodov Y.S. Modern ideas of pectin substances / Bioorganic Chemistry. 2009. Vol.35, No.3. pp. 293–310].
5. Ovodova R.G., Bushneva O.A., Shashkov A.S., Ovodov Ju.S. Vydelenie i issledovanie polisaharidov iz smolevki obyknovnoho silene vulgaris / Bioorganicheskaja himija. 2000. T. 26. no. 9. pp. 686–692. [Ovodova R.G., Bushneva O.A., Shashkov A.S., Ovodov Y.S. Isolation and investigation of polysaccharides from campion ordinary silene vulgaris / Bioorganic Chemistry. 2000. T. 26. no. 9. pp. 686 692].
6. Ovodova R.G., Golovchenko V.V., Popov S.V., Shashkov A.S., Ovodov Ju.S. Vydelenie i predvaritel'noe issledovanie stroeniya i fiziologicheskoi aktivnosti vodorastvorimyh polisaharidov iz shrota jagod kaliny obyknovnoho Viburnum opulus / Bioorganicheskaja himija. 2000. T.26, no. 1. pp. 61–67. [Ovodova R.G., Golovchenko V.V., Popov, S.V., Shashkov A.S., Ovodov Y.S. Isolation and preliminary study of the structure and physiological activity of water-soluble polysaccharides from ordinary meal of berries of *Viburnum opulus* / Bioorganic Chemistry. 2000. Vol. 26, no. 1. pp. 61 67].
7. Tigunceva N.P., Kanickaja L.V., Evstaf'ev S.N. Sostav vodorastvorimyh soedinenij nadzemnoj chasti oduvanchika lekarstvennogo *Taraxacum officinale* / Izvestija Vuzov. Prikladnaja himija i biotehnologija. 2011. no 1. pp. 71–75. [Tigunseva N.P., Kanitskaya L.V., Evstafiev S.N. Water-soluble products from the dandelion medicinal *Taraxacum officinale* aerial part / Proceedings universities. Applied chemistry and biotechnology. 2011. no.1. pp. 71–75].
8. Aboughe-Angone S., Nguema-Ona E., Ghosh P., Lerouge P., Ishii T., Ray B., Driouich A. / Carbohydr. Res. 2008. Vol. 343. pp. 67–72.
9. Catoire L., Goldberg R., Pierron M., Morvan C., Herve du Penhoat C. / Eur. Biophys. J. 1998. Vol. 27. pp. 127–136.
10. Marcon M.V., Carneiro P.I.B., Wosiacki G., Beleski-Carneiro E. / Ann. Magn. Reson. 2005. Vol. 4, Issue 3. pp. 56–63.
11. Wang X.-S., Dong Q., Zuo J.-P., Fang J.-N. Structure and potential immunological activite of a pectin from *Centella asiatica* (L.) Urban / Carbohydr. Research . 2003. Vol. 338. pp. 2393–2402.

Рецензенты:

Дьячкова С.Г., д.х.н., профессор, заведующая кафедрой химической технологии, декан химико-металлургического факультета, ФБГОУ ВПО «Национальный исследовательский Иркутский государственный технический университет», г. Иркутск;
 Пожидаев Ю.Н., д.х.н., профессор кафедры химии и пищевой технологии, ФБГОУ ВПО «Национальный исследовательский Иркутский государственный технический университет», г. Иркутск.

Работа поступила в редакцию 20.09.2013.