

*М. Г. Сыса*

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИСАХАРИДНОГО СОСТАВА  
ФАРМАКОПЕЙНОГО СЫРЬЯ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ И  
РУДБЕКЦИИ ШЕРШАВОЙ**

*Научный руководитель: канд. фарм. наук, доц. Р.И.Лукашов*

*Кафедра фармацевтической химии,*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*M. G. Sysa*

**COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE POLYSACCHARIDE  
COMPOSITION OF PHARMACOPOEIAL RAW ECHINACEA PURPUREA AND  
RUDBECKIA HIRTA**

*Tutor: associate professor R. I. Lukashov*

*Department of Pharmaceutical Chemistry,*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** Выделены и описаны полисахаридные фракции фармакопейного сырья эхинацеи пурпурной и рудбекии шершавой после его предварительной очистки от фенольных соединений. Изучена возможность использования фенол-сернокислового метода для количественного определения водорастворимых полисахаридов в водном растворе и влияние аминокислот, фенольных соединений на результат спектрофотометрического определения.

**Ключевые слова:** эхинацеи пурпурной трава, рудбекии шершавой цветки, гравиметрия, водорастворимые полисахариды, фенол-сернокислый метод.

**Resume.** Polysaccharide fractions from pharmacopoeial raw of Echinacea purpurea and Rudbeckia hirta after pre-cleaning of phenolic compounds have been isolated and described. The possibility of using the phenol-sulfate method for the quantitative determination of water-soluble polysaccharides in an aqueous solution and the effect of amino acids and phenolic compounds on the result of spectrophotometric determination was studied.

**Keywords:** Echinaceae purpureae herba, Rudbeckia hirta flores, gravimetry, water-soluble polysaccharides, phenol-sulfuric acid method.

**Актуальность.** В настоящее время для лечения и профилактики простудных заболеваний часто используют лекарственные средства и биологически активные добавки к пище на основе растений рода эхинацея [7]. Однако их не рекомендуют принимать в течение длительного периода времени из-за возникновения нежелательных реакций, развитие которых можно избежать при приеме рудбекии шершавой [2, 3].

Считается, что иммуномодулирующий эффект эхинацеи обусловлен в том числе полисахаридами, качественный и количественный состав которых достаточно хорошо изучен [7] в отличие от полисахаридов рудбекии шершавой, о которых имеются лишь отрывочные литературные сведения [3, 4]. Поэтому представляет научно-практический интерес сравнительный анализ полисахаридного состава эхинацеи пурпурной и рудбекии шершавой.

**Цель:** провести сравнительный анализ полисахаридного состава фармакопейного сырья эхинацеи пурпурной и рудбекии шершавой гравиметрическим методом.

**Задачи:**

1. Провести гравиметрическим методом сравнение содержания водорастворимых полисахаридов, полученных из лекарственного растительного сырья (ЛРС), подвергнутого предварительной обработке, и без нее.

2. Определить гравиметрическим методом содержание водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ и суммы гемицеллюлоз А и Б в изучаемом сырье после удаления фенольных соединений.

3. Установить возможность использования для количественного определения водорастворимых полисахаридов в изучаемом сырье спектрофотометрического фенол-серноокислого метода.

**Материал и методы.** Объекты исследования:

- цветки рудбекии шершавой, заготовленные в период массового цветения (середина июля) 2018 года, в поселке Улановичи, окрестности г. Витебск;

- эхинацеи пурпурной трава, сырье измельченное по 50 г в пачке; производитель: «Падис'С», Республика Беларусь; серия: 08571017; годен до 08.2020;

- эхинацеи пурпурной трава, порошок крупный по 1,2 г в фильтр-пакетах № 20; производитель: «Падис'С», Республика Беларусь; серия: 09170318; годен до: 10.2020.

Для получения водорастворимых полисахаридов (ВПС) после очистки от фенольных соединений (ФС) [5] к точным навескам ЛРС добавляли *ацетон Р (60%, об/об)* для травы эхинацеи пурпурной и *метанол Р (80%, об/об)* для цветков рудбекии шершавой при соотношении сырья и растворителя 1 к 10. Выдерживали на водяной бане (ВБ) при 60 °С в течение 1 ч. Водно-органический экстракт сливали, и из полученного шрота экстрагировали ВПС *водой Р* при соотношении сырья и экстрагента 1 к 10 на кипящей ВБ в течение 1 ч. Из водного извлечения осаждали ВПС трехкратным объемом *96% спирта Р*.

К оставшемуся после водной экстракции шроту для выделения фракции пектиновых веществ (ПВ) [1] добавляли смесь растворов 5 г/л *щавелевой кислоты Р* и 5 г/л *аммония оксалата Р* в объемном соотношении 1 к 1 при соотношении сырья и экстрагента 1 к 20 и проводили экстракцию на ВБ при 85 °С в течении 2 ч. Из полученного таким образом извлечения осаждали ПВ пятикратным объемом *96% спирта Р*.

К оставшемуся после выделения ПВ шроту для получения суммы гемицеллюлоз (ГЦ) А и Б [6] добавляли раствор 100 г/л *натрия гидроксида Р* при соотношении сырья и экстрагента 1 к 10, экстракцию проводили при комнатной температуре в течение 12 ч. рН такого извлечения доводили до 5,0 *кислотой уксусной Р*. ГЦ А и Б осаждали четырехкратным объемом *96% спирта Р*.

Для получения фракции ВПС после обезжиривания и удаления ФС к точным навескам ЛРС добавляли обезжиривающий агент: *толуол Р* для рудбекии шершавой и *диэтиловый эфир Р* для эхинацеи пурпурной при соотношении сырья и агента 1 к 50. Обезжиривание проводили в плотно закупоренных сосудах на механической мешалке при комнатной температуре в течение 60 мин, сырье отделяли от вытяжки путем фильтрования. Фильтр с остатками сырья высушили при комнатной температуре. Из обезжиренного ЛРС экстрагировали ВПС.

Для получения фракции ВПС без предварительной обработки ЛРС готовили настой (к точной навеске сырья добавляли 200,0 мл *воды Р*, закрывали емкость крышкой, кипятили на ВБ 15 мин, настаивали при комнатной температуре 45 мин, процеживали,

сырье отжимали, объем извлечения доводили *водой P* до 200,0 мл) и чай (к фильтр-пакету добавляли 200,0 мл кипящей *воды P*, закрывали емкость крышкой и настаивали при комнатной температуре 15 мин, фильтр-пакет отжимали, доводили объем до 200,0 мл). Водные извлечения готовили из ЛРС эхинацеи пурпурной в соответствии с инструкциями по медицинскому применению соответствующих лекарственных средств.

Из ЛРС эхинацеи пурпурной и рудбекии шершавой также готовили отвар и чай по разработанным технологиям:

- отвар (к точной навеске ЛРС добавляли *воду P* при соотношении сырья и экстрагента 1 к 10 с учетом коэффициентов водопоглощения, помещали на кипящую ВБ на 40 мин, настаивали 20 мин при комнатной температуре);

- чай (к точной навеске ЛРС добавляли кипящую *воду P* при соотношении сырья и экстрагента 1 к 100 с учетом коэффициентов водопоглощения, настаивали 5 мин при комнатной температуре).

Осаждение ВПС проводили как описано выше. Все полученные осадки переносили на бумажные фильтры и сушили при комнатной температуре. Содержание каждой фракции ПС определяли гравиметрическим методом в трех повторностях в пересчете на сухое сырье.

Водные растворы фракции ВПС готовили путем растворения полученных после водной экстракции осадков в 10,0 мл *воды P*, подогревая на ВБ до 80 °С.

Количественное определение фракций ВПС в растворах, полученных из ЛРС после удаления ФС, проводили дополнительно фенол-серноокислым методом [5].

*Испытуемый раствор:* к 0,5 мл водного раствора фракции ВПС добавляли 1,25 мл *кислоты серной концентрированной P* и 0,25 мл раствора 50 г/л *фенола P*. Полученную смесь помещали на ВБ при 85 °С на 60 мин. Затем охлаждали до комнатной температуры. В качестве *раствора сравнения* использовали раствор 0,1 г/л *глюкозы P*.

Спектры регистрировали в интервале длин волн от 200 нм до 800 нм на спектрофотометре Solar PB 2201.

**Результаты и их обсуждение.** Выделенные после удаления ФС из ЛРС фракции ВПС и ПВ цветков рудбекии шершавой имели темно-фиолетовое и красноватое светло-фиолетовое окрашивание соответственно, ВПС и ПВ травы эхинацеи пурпурной – коричневое и светло-коричневое окрашивание соответственно, ГЦ А и Б у обоих растений были буровато-зеленого цвета.

Для сравнения содержания полисахаридных фракций в изучаемом сырье после его очистки от ФС составили таблицу 1.

**Табл. 1.** Содержание полисахаридных фракций в изучаемом сырье после его очистки от ФС

	Трава эхинацеи пурпурной	Цветки рудбекии шершавой
ВПС	6,97±0,331%,	14,8±0,549%
ПВ	5,85±0,0481%	11,2±0,693%,
Сумма ГЦ А и Б	54,6±1,64%	36,5±1,12%
Соотношение содержания фракций	1,2:1:9,3	1,3:1:3,2

Из таблицы 1 видно, что в цветках рудбекии шершавой содержание суммы ВПС и ПВ больше, а содержание суммы ГЦ А и Б меньше, чем в траве эхинацеи пурпурной. При этом соотношение содержаний определяемых фракций одинаково.

На основании гравиметрического определения ВПС в изучаемом сырье после его предварительной обработки и без нее составили таблицу 2.

**Табл. 2.** Содержание ВПС в изучаемом сырье

Способ предварительной обработки	ЛРС эхинацеи пурпурной	ЛРС рудбекии шершавой
Удаление ФС	6,97±0,331%	14,8±0,549%
Обезжиривание + удаление ФС	5,16±0,139%	7,91±0,185%
Настой (инструкция по мед. применению)	15,3%	-
Чай (инструкция по мед. применению)	17,0%	-
Отвар (разработанная технология)	14,2%	30,3%
Чай (разработанная технология)	30,3%	30,6%

Из таблицы 2 видно, что наибольшее содержание ВПС характерно для водных извлечений, полученных из ЛРС без предварительной обработки. Наименьшее содержание наблюдалось в случае проведения двухступенчатой обработки. Содержание ВПС во всех случаях было больше в ЛРС рудбекии шершавой.

Фенол-серноокислый метод количественного определения основан на гидролизе ВПС под действием кислоты серной концентрированной до глюкозы, которая дегидратируется с образованием оксиметилфурфуrolа. Оксиметилфурфуrol взаимодействует с фенолом с образованием ауринового красителя по реакции конденсации, который имеет максимум поглощения при 490 нм.

Количественное определение фенол-серноокислым методом не показало воспроизводимых результатов. Наиболее показательное отсутствие воспроизводимости для серии разведений одного и того же раствора. Полученные этим методом результаты сравнивались с результатами гравиметрического определения и представлены в таблице 3.

**Табл. 3.** Результаты определения концентрации ВПС фенол-серноокислым методом

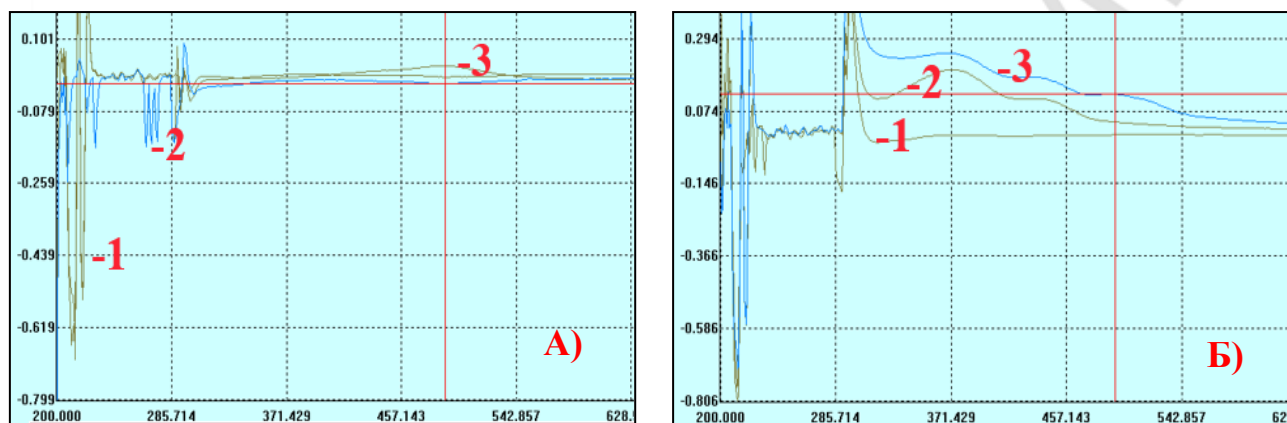
	С, % (гравиметрия)	А, 490 нм	С, % (спектрофотометрия)
Э1 <sub>внс</sub> -1.1	0,01500	0,0060	0,00067
Э1 <sub>внс</sub> -1.2	0,01500	0,0095	0,00106
Э1 <sub>внс</sub> -1.3	0,01500	0,0087	0,00097
Р3 <sub>внс</sub> -1.1	0,01102	0,0897	0,09974
Р3 <sub>внс</sub> -1.3	0,01102	0,1040	0,11564
Glu 0,15 г/л		0,2698	

Как видно из таблицы 3, результаты количественного определения фенол-серноокислым методом не совпадали с гравиметрическим определением и существенно различались для серии разведений каждой пробы.

На рисунке 1 представлены спектры поглощения реакционной смеси, содержащей кислоту серную концентрированную, фенол и А) – треонин, фенилаланин и комбинацию обеих аминокислот с глюкозой; Б) – кофейную кислоту, патулитрин и комбинацию кофейной кислоты и патулитрина с глюкозой.

**Рис. 1** – Спектры поглощения реакционной смеси: А) 1 – треонин; 2 – фенилаланин; 3 – глюкоза + треонин + фенилаланин; Б) 1 – кофейная кислота; 2 – патулитрин; 3 – глюкоза + кофейная кислота + патулитрин

Из рисунка 1 видно, что на спектрах поглощения реакционной смеси с аминокислотами, патулитрином и кофейной кислотой отсутствовал максимум поглощения, характерный для ауринового красителя. При анализе спектров поглощения реакционных смесей аминокислот и фенольных соединений с глюкозой данный максимум появлялся.



### Выводы:

1 Наибольшее содержание ВПС в цветках рудбекии шершавой и траве эхинацеи пурпурной наблюдается в отсутствие предварительной обработки ЛРС (30,6% и 30,3% соответственно при получении чая по разработанной технологии), наименьшее – при двухэтапной обработке (7,91% и 5,16% соответственно).

2 Содержание ВПС и ПВ в цветках рудбекии шершавой в 2,1 и 1,9 раза больше, чем в траве эхинацеи пурпурной. Однако данный показатель в 1,5 раза меньше для суммы ГЦ А и Б. Соотношение содержания фракций сходное.

3 Количественное определение с использованием фенол-сернокислого метода не показало воспроизводимых результатов. Фенольные соединения и аминокислоты не оказывают влияния на результаты спектрофотометрического определения ВПС.

### Литература

1. Бубенчиков, Р. А. Изучение компонентного состава полисахаридов травы видов череды [Текст]\* / Р. А. Бубенчиков // Вестник ВГУ. – 2004. – №1. – С. 156–159.
2. Булаев, В. М. Безопасность и эффективность лекарственных растений: учеб. пос. – 2-е изд. / В. М. Булаев, Е. В. Ших, Д. А. Сычев. – М.: Практическая медицина, 2013. – 272 с.
3. Лукашов, Р. И. Стандартизация, химический состав и фармакологическая активность цветков рудбекии шершавой (*Rudbeckia hirta* L.): автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.01 / Р. И. Лукашов; ВГМУ. – Витебск, 2015. – 25 с.
4. Лукашов, Р. И. Фенольные соединения рудбекии шершавой цветков и их иммуностропная активность [Текст]\* / Р. И. Лукашов, Д. В. Моисеев // Вестник фармации. – 2015. – №4. – С. 118–124.
5. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances / M. Dubois [et al.] // Analyt. Chem. – 1956. – Vol. 28. – P. 350–356.
6. Isolation and fractionation of hemicelluloses by graded ethanol precipitation from *Caragana korshinskii*

/ J. Bian [et al.] // Carbohydrate Research. – 2010. – Vol. 345. – P. 802–809.  
7. The genus Echinacea / S. C. Miller. – Helsinki: SRS Press, 2004. – 270 с.

Репозиторий БГМУ