

ИЗУЧЕНИЕ ВЕЩЕСТВ ПЕРВИЧНОГО БИОСИНТЕЗА ТРАВЫ ТИМЬЯНА БЛОШИНОГО (THYMUS PULEGIOIDES L.)

Бубенчикова В.Н.¹, Старчак Ю.А.²

¹ ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет Минздрава России», Курск, Россия (305041, Курск, ул. К. Маркса, 3), e-mail: fg.ksmu@mail.ru

² Орловский государственный университет, Медицинский институт, Орел, Россия (302028, ул. Октябрьская, 25), e-mail: yulya-starchak@yandex.ru

В статье приведены результаты исследования полисахаридного комплекса *Thymus pulegioides* L. Установлено, что углеводный комплекс надземной части *Thymus pulegioides* L. представлен водорастворимыми полисахаридами, выход которых составил 5,80% от массы воздушно-сухого сырья, пектиновыми веществами, выход их из сырья составил 10,60%, гемицеллюлозой А, выход которой составил 14,97% и гемицеллюлозой Б, выход составил 4,36% от массы воздушно-сухого сырья; установлен их моносахаридный состав. Преобладающими моносахарами в водорастворимом полисахаридном комплексе являются галактоза и арабиноза, основу пектиновых веществ составляет галактуроновая кислота, преобладающим моносахаридом гемицеллюлозой А и Б является ксилоза. Изучен качественный и количественный аминокислотный и минеральный состав травы тимьяна блошиного.

Ключевые слова: *Thymus pulegioides* L., водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлоза А и Б, аминокислоты, минеральные элементы.

INVESTIGATION OF SUBSTANCES PRIMARY BIOSYNTHESIS OF THE ABOVEGROUND PART OF THYMUS PULEGIOIDES L.

Bubenchicova V.N.¹, Starchak Yu.A.²

¹ Kursk state medical university, Kursk, Russia (305041, K.Marx str., 3), e-mail: fg.ksmu@mail.ru

² Orel state university Medical institute, Orel, Russia (302028, Oktyabrskay str., 25), e-mail: yulya-starchak@yandex.ru

The results of the investigation of the *Thymus pulegioides* L. polysaccharide complex have been presented in the article. It has been established that the carbohydrate complex of *Thymus pulegioides* L. above-ground part is presented by water-soluble polysaccharides, the yield of which amounted to 5,80% by an air dry material's weight, pectins, their output of raw materials amounted to 10,60%, hemicellulose A, the output of which was 14,97%, and hemicellulose B, t of which amounted to 4,36% by an air dry material's weight. Their monosaccharide composition has been established. Galactose and arabinose are the predominant monosaccharides in water-soluble polysaccharide complex. Galacturonic acid is a basis of pectins. Xylose is the predominant monosaccharide of hemicellulose A and B. The qualitative and quantitative amino acid and mineral composition of *Thymus pulegioides* L. herb has been investigated.

Key words: *Thymus pulegioides* L., watersoluble polysaccharide substances, pectins, hemicelluloses A, B, aminoacid and mineral composition.

Введение

На территории Средней полосы Европейской части России произрастает 9 видов рода тимьян (*Thymus* L.), которые заготовители собирают как равноценные под названием «Трава чабреца» [4]. Виды данного рода содержат эфирные масла, фенольные соединения, тритерпеновые соединения и отличаются друг от друга по количественному и качественному составу указанных групп биологически активных веществ [6]. При этом, при заготовке травы чабреца не учитываются различия между отдельными видами, которые могут иметь различный состав как эфирного масла, так и фенольных и тритерпеновых соединений и различную направленность действия.

Целью работы явилось изучение веществ первичного биосинтеза травы тимьяна блошиного.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служила сухая воздушно-измельченная трава тимьяна блошиного, заготовленная в 2011 г. в Брянской области в фазу цветения.

Для выделения полисахаридного комплекса воздушно-сухое измельченное сырье предварительно обрабатывали 70%-ным спиртом этиловым для удаления полифенольных соединений, затем водой экстрагировали водорастворимые полисахариды.

Воздушно-сухой шрот экстрагировали водой в соотношении 1:20 к массе сырья при нагревании до 95 °С в течение 1 часа при постоянном перемешивании. Повторное извлечение полисахаридов проводили дважды водой в соотношении 1:10. Растительный материал отделяли центрифугированием, и объединенные экстракты упаривали до 1/5 первоначального объема. Полисахариды осаждали тройным объемом 96%-ного спирта этилового при комнатной температуре. Выпавший плотный осадок полисахаридов отделяли, промывали 70%-ным спиртом этиловым, ацетоном. Полученные водорастворимые полисахаридные комплексы лиофильно высушивали [2].

Из шрота, оставшегося после получения водорастворимых полисахаридов, выделяли пектиновые вещества экстракцией смесью 0,5%-ных растворов кислоты щавелевой и оксалата аммония (1:1) в соотношении 1:20 при 80–85 °С в течение 2 часов. Повторное извлечение проводили дважды в соотношении 1:10. Объединенные извлечения концентрировали и осаждали пятикратным объемом 96%-ного спирта этилового. Полученные осадки отфильтровывали, промывали спиртом этиловым, высушивали и взвешивали [2].

Шрот, оставшийся после выделения пектиновых веществ, заливали пятикратным объемом 10%-ного водного раствора натрия гидроксида и оставляли при комнатной температуре на 12 часов. Затем отфильтровывали, к полученному фильтрату прибавляли два объема кислоты уксусной. Образовавшийся осадок отфильтровывали через фильтр. На фильтре получился осадок гемицеллюлозы А в виде зеленовато-коричневой массы. К фильтрату добавляли двукратный объем 96%-ного спирта этилового для осаждения гемицеллюлозы Б. Полученный осадок отфильтровывали через фильтр, промывали спиртом, высушивали [2].

Для установления моносахаридного состава водорастворимых полисахаридов (ВРПС), пектиновых веществ (ПВ), гемицеллюлозы А и Б (Гц А, Гц Б) проводили их гидролиз 2Н кислотой серной. Навески веществ (0,05) помещали в ампулу емкостью 5–10 мл, прибавляли 2,5 мл раствора кислоты серной, запаивали ампулы и гидролизировали при температуре 100–

105 °С в течение 6 часов (для ВРПС), 24 часов (для ПВ) и 48 часов (для Гц А, Гц Б). Гидролизат нейтрализовали бария карбонатом по универсальному индикатору до нейтральной реакции, отфильтровывали и осаждали спиртом этиловым 96%-ным. Образовавшийся осадок обрабатывали катионитом КУ – 2 до кислой реакции. Разделение и идентификацию нейтральных моносахаридов проводили методом нисходящей хроматографии на бумаге в системе растворителей н-бутанол-пиридин-вода (6:4:3) параллельно со стандартными образцами сахаров. Кислые моносахара разделяли в системе этилацетат – кислота муравьиная – вода – кислота уксусная (18:1:4:3). Проявитель – анилинфталат, температура проявления 100 °С, длительность проявления 10–15 минут [2].

Качественное обнаружение аминокислот проводили в водном извлечении с помощью нингидриновой реакции и хроматографией в тонком слое сорбента [1; 3]. Для этого 5,0 г воздушно-сухого измельченного сырья заливали 50 мл дистиллированной воды и нагревали с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 1 часа. Извлечение фильтровали, сырье заливали снова 50 мл воды и операцию повторяли. Водные извлечения, полученные после трехкратной экстракции, объединяли, упаривали под вакуумом до 25 мл и использовали для проведения качественной реакции и хроматографического анализа. При качественном анализе смешивали равные объемы исследуемого извлечения и 0,1% свежеприготовленного раствора нингидрина и осторожно нагревали.

Хроматографический анализ проводили в тонком слое сорбента. 0,03–0,05 мл полученных извлечений наносили на подготовленные хроматографические пластинки «Силуфол» и хроматографировали в системе растворителей: 96%-ный спирт этиловый: концентрированный аммиак в соотношении (16:4,5) параллельно с достоверными образцами аминокислот. Хроматограммы высушивали на воздухе, обрабатывали их 0,2%-ным спиртовым раствором нингидрина и нагревали в сушильном шкафу при температуре 100–105 °С в течение нескольких минут.

Для более детального изучения содержания свободных аминокислот использовали аминокислотный анализатор марки LKB 4151 «Альфа плюс» [1]. Связанные аминокислоты определяли после кислотного гидролиза.

Определение содержания макро- и микроэлементов в сырье проводили с использованием эмиссионного спектрального анализа [1].

Результаты исследования и их обсуждение. В результате проведенных исследований из травы тимьяна блошиного впервые были выделены полисахариды. Выход водорастворимого полисахаридного комплекса составил 5,80%, который представляет собой аморфное вещество светло-коричневого цвета, без запаха, хорошо растворим в воде, практически нерастворим в органических растворителях, дает положительные реакции

осаждения со спиртом, ацетоном, реакцию Феллинга после кислотного гидролиза, а также образует оранжевое окрашивание с раствором основного свинца ацетата и зеленоватый осадок с меди сульфатом.

Выход пектиновых веществ составил 10,60% от массы воздушно-сухого сырья. Пектиновые вещества представляют собой порошок светло-кремового цвета, хорошо растворимы в воде с образованием вязкого раствора (рН 1%-ного водного раствора 3–4). Водные растворы пектиновых веществ осаждаются 1%-ным раствором алюминия сульфата с образованием пектинов [2]. Выход гемицеллюлозы А составил 14,97%, а гемицеллюлозы Б – 4,36% от массы воздушно-сухого сырья.

Методом хроматографии на бумаге параллельно с достоверными образцами сахаров в исследуемом ВРПС идентифицировали глюкозу, галактозу, арабинозу, рамнозу, ксилозу, глюкуроновую и галактуроновую кислоты, с преобладанием галактозы и арабинозы. В выделенных ПВ преобладающей является галактуроновая кислота, кроме того, в них обнаружены и нейтральные моносахариды – галактоза, арабиноза, ксилоза и рамноза.

В гидролизате ГЦ А и ГЦ Б обнаружены галактоза, арабиноза, глюкоза, ксилоза. По величине пятен и интенсивности их окраски преобладающим моносахаридом является ксилоза, что указывает на наличие полисахаридов типа ксиланов.

Результаты качественного анализа аминокислот позволили установить их наличие в траве тимьяна блошиного. При хроматографическом анализе аминокислоты проявлялись в виде красно-фиолетовых пятен.

Аминокислотный состав травы тимьяна блошиного представлен аспарагиновой кислотой, треонином, серином, глутаминовой кислотой, пролином, цистеином, глицином, аланином, валином, метионином, изолейцином, лейцином, тирозином, фенилаланином, гистидином, лизином, аргинином. Суммарное содержание свободных аминокислот в траве тимьяна блошиного составляет 0,70 мг/100 мг, содержание связанных аминокислот – 2,145 мг/100 мг (таблица 1).

Таблица 1 – Содержание и состав аминокислот травы тимьяна блошиного, мг/100 мг в пересчете на абсолютно сухое сырье

Наименование аминокислоты	Содержание свободных аминокислот	Содержание связанных аминокислот
Аспарагиновая кислота	0,040	0,070
Треонин*	0,020	0,050
Серин	0,020	0,045
Глутаминовая кислота	-	0,150

Пролин	-	0,450
Цистеин	0,120	Следы
Глицин	0,050	0,150
Аланин	0,120	0,130
Валин*	0,020	0,220
Метионин*	0,010	0,045
Изолейцин*	0,010	0,035
Лейцин*	0,070	0,270
Тирозин	0,040	0,080
Фенилаланин*	0,040	0,150
Гистидин	0,020	0,060
Лизин*	0,050	0,080
Аргинин	0,060	0,170
Сумма аминокислот	0,700	2,145
* – незаменимые аминокислоты.		

Проведенный анализ минерального состава показал, что наибольшая концентрация среди биоэлементов в траве тимьяна блошиного наблюдается у фосфора (0,07824%), марганца (0,01956%), бария (0,02934%), а наименьшая у молибдена (0,00000978%) и висмута (0,00000978%).

Выводы. Из травы тимьяна блошиного выделены полисахариды: водорастворимый полисахаридный комплекс, пектиновые вещества и гемицеллюлоза А и Б, изучен их качественный состав.

Изучен качественный и количественный аминокислотный и минеральный состав.

Список литературы

1. Бубенчиков Р.А. Аминокислотный и минеральный состав травы фиалки удивительной // Вестн. Воронеж. гос. ун-та. Сер. Химия. Биология, Фармация. – 2006. – № 1. – С. 186-188.
2. Бубенчиков Р.А. Фенольные соединения и полисахариды фиалки собачьей // Вестн. Воронеж. гос. ун-та. Сер. Химия, Биология, Фармация. – 2004. – № 1. – С. 156-159.
3. Бубенчикова В.Н., Сухомлинов Ю.А., Гончаров Н.Ф. Аминокислотный состав некоторых представителей растений семейства розоцветных // Человек и его здоровье. – 2009. – № 3. – С. 134-137.
4. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. – М. : Товарищество научных изданий КМК., 2006. – 600 с.

5. Маликова М.Х., Рахимов Д.А., Кристаллович Э.Л. и др. Изучение пектинов диких яблок // Химия природ. соединений. – 1993. – № 3. – С. 355-357.

6. Растительные ресурсы России: дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 4. Семейства *Caprifoliaceae* – *Lobeliaceae* / отв. ред. А.Л. Буданцев. – СПб. ; М. : Товарищество научных изданий КМК, 2011. – 630 с.

Рецензенты

Хабаров А.А., д.фарм.н., профессор кафедры общей химии ГБОУ ВПО «КГМУ», г. Курск.

Дроздова И.Л., д.фарм.н., профессор кафедры фармакологии и ботаники ГБОУ ВПО «КГМУ», г. Курск.