

УДК: 615.322: 582.948.25

DOI: 10.18413/2313-8955-2016-2-4-73-77

Казакова В.С.
Новиков О.О.
Фадеева Д.А.
Шестопалова Н.Н.
Малютина А.Ю.
Иванова Л.Л.
Иванова В.Э.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА
ПОЛИСАХАРИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТЕНИЙ РОДА МЕДУНИЦА**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия
E-mail: kazakova@bsu.edu.ru

Аннотация

Наиболее эффективным способом расширения списка лекарственного растительного сырья является изучение с дальнейшим медицинским применением не достаточно изученных видов растений, к числу которых относится такое растение как медуница неясная (*Pulmonaria obscura* L.). *Pulmonaria obscura* является многолетним травянистым растением, принадлежит к семейству Бурачниковые (*Boraginaceae*) высотой достигает 8-30 см, корневище толстое бурого цвета с придаточными корнями. Листовая пластина цельнокрайняя, короткожестковолосистая, заостренная, могут быть беловатые пятна. Цветки на коротких цветоножках собраны в немногочетковые, парные завитки, могут быть собранные на верхушке стебля растения в соцветие щиток. Плод у медуницы неясной сухой орешек, который заключен в колокольчатую чашечку. Наиболее распространено в Центрально-Черноземной части России, является официальной во многих странах и используется в качестве смягчающего, отхаркивающего, вяжущего средств. В статье представлена разработанная методика гравиметрического и количественного определения суммы полисахаридов для лекарственного растительного сырья «Медуницы листья». Изучены стадии экстрагирования, условия осаждения суммы полисахаридов.

Ключевые слова: *Pulmonaria obscura* L.; полисахариды; количественное определение.

Kazakova V.S.
Novikov O.O.
Fadeeva D.A.
Shestopalova N.N.
Malyutina A.Yu.
Ivanova L.L.
Ivanova V.E.

**DETERMINING THE NUMBER OF POLYSACCHARIDE COMPOUNDS
IN PLANTS OF THE GENUS PULMONARIA**

Belgorod State National Research University, Pobedy St., 85, Belgorod, 308015, Russia. E-mail: kazakova@bsu.edu.ru

Abstract

The most productive way of expanding the range of medicinal plants is a study to prove that it is possible to use in medicine the poorly known species of plants, including obscure lungwort (*Pulmonaria obscura* L.). Obscure lungwort (*Pulmonaria obscura* L.) is a perennial herb of the Borage family (*Boraginaceae*) with the height of 8-30 cm, with a thick brown rhizome and numerous adventitious roots. The leaves are smooth-edged, acuminate, hispid, sometimes with whitish spots. The flowers are on short pedicels, collected in pauciflorous, often paired cymes, sometimes collected at the top of the stem in the plate. The fruit is dry, consisting of four nutlets enclosed in a bell-shaped cup. Obscure lungwort is widespread in the regions of Central Russia. It is officinal in several countries and is used as an expectorant, emollient, astringent antihemorrhagic remedy. The article presents the developed method and gravimetric quantitative determination of the amount of polysaccharides for medicinal plant materials «Lungwort leaves». The authors also studied the stage extraction, the conditions of deposition amounts of polysaccharides.

Keywords: *Pulmonaria obscura* L.; polysaccharides; quantitative determination.

Введение

На данный момент использования лекарственных средств на основе лекарственного растительного сырья очень возросла. Лечение растениями и фитопрепаратами издавна вошли в нашу жизнь и в настоящее время получило признание в медицине во всех странах мира. Немаловажным преимуществом лекарственных растений перед синтетическими лекарственными средствами является присутствие в них наиболее естественного комплекса биологически активных веществ в более доступной форме.

Следовательно, это увеличивает потребность в растительном лекарственном сырье и вызывает необходимость изучения химического состава лекарственного растительного сырья, обоснованного использования лекарственных растений в медицинских целях.

Одним из эффективным способом расширения списка лекарственного растительного сырья является исследование с дальнейшим медицинским применением малоизученных видов растений, к числу которых относится растения рода медуница (медуница неясная (*Pulmonaria obscura* L.)) (рисунок 1).



Рис. 1. Внешний вид *Pulmonaria obscura* L.
Fig. 1. *Pulmonaria obscura* L. External appearance

Медуница неясная (*Pulmonaria obscura* L.). *Pulmonaria obscura* является многолетним травянистым растением, принадлежит к семейству Бурачниковые (*Boraginaceae*) высотой достигает 8-30 см, корневище толстое бурого цвета с придаточными корнями. Листовая пластина цельнокрайняя, короткожестковолосистая, заостренная, могут быть беловатые пятна. Цветки на коротких цветоножках собраны в немногочетковые, парные завитки, могут быть собранные на верхушке стебля растения в соцветие щиток. Плод

у медуницы неясной сухой орешек, который заключен в колокольчатую чашечку. Наиболее распространено в Центрально-Черноземной части России, является официальной во многих странах и используется в качестве смягчающего, отхаркивающего, вяжущего средств. [10, 14].

В Центрально-Черноземной России произрастают медуница неясная и узколистная, у которых химический состав мало изучен [8, 11].

Целью настоящей работы явилось обосновать возможность использования листьев медуницы неясной в качестве будущего источника полисахаридных соединений. Разработать методику гравиметрического и количественного определения полисахаридов в листьях медуницы.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования были листья медуницы неясной (*Pulmonaria obscura* Dumort.) Основываясь на литературные данные, ведущими группами действующих веществ растений рода медуница являются флавоноиды и полисахариды [9]. Исходя из этого для стандартизации сырья «Медуницы листья» нами были разработаны методики количественного определения полисахаридов. Определение полисахаридов количественным методом в растениях рода медуница и проводили гравиметрическими [5, 9] и спектрофотометрическими [1] методами.

Спектрофотометрический метод построен на измерении оптической плотности в видимой области продуктов взаимодействия моносахаридов, которые образовались в результате гидролиза полисахаридов с хромогенными реактивами, такими как, например, в щелочной среде с пикриновой кислотой [1, 7].

Гравиметрический метод [9], является распространенным для анализа лекарственного растительного сырья, содержащего полисахариды, который основан на экстракции суммы полисахаридов из сырья и дальнейшим осаждением 95%-м спиртом этиловым.

Для дальнейшего анализа сырья нами разработана методика гравиметрического определения полисахаридов.

Разработка данной методики проводилась на одном образце медуницы неясной.

Были изучены стадии – это условия осаждения и экстрагирование суммы полисахаридов

Наиболее продолжительной стадией при анализе полисахаридов из лекарственного сырья количественным методом является экстракция. Протекание экстракции полисахаридов зависит от следующих факторов: времени экстракции, от

степени измельченности сырья, типа экстрагента, температуры экстракции, соотношения сырье-экстрагент.

В качестве экстрагента использовали воду дистиллированную для выделения полисахаридов [9, 13].

Измельченность сырья оказывает особое влияние на процесс экстракции. Наиболее оптимальное значение измельченности, равны 1-3 мм [6, 12]. Были проведены исследования влияния степени измельченности сырья на экстракцию суммы полисахаридов, полученные данные представлены в таблице 1.

Данные приведенные в 1 показывают, что наибольшее извлечение полисахаридов из сырья медуницы неясной достигается при степени измельчения до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм.

Таблица 1

Степень измельченности листьев для экстрагирования суммы полисахаридов

Table 1

The degree of atomization of the leaves for extractable amounts of polysaccharides

Степень измельчения листьев в мм	Сумма полисахаридов, %
1	8,39
2	7,01
3	6,77

Для извлечения полисахаридов, по литературным данным, предложена многократная экстракция сырья водой [6, 9]. Нами была применена экстракция до полного извлечения полисахаридов из сырья в соотношении 1:10 (сырье-растворитель).

В таблице 2 показано, что при применение четырехкратной экстракции (4 раза по 30 минут) в течение 120 минут происходит полностью извлечение полисахаридов.

Таблица 2

Обусловленность содержания суммы полисахаридов от времени экстрагирования

Table 2

The dependence of the amount of polysaccharides on the time of extraction

№	Время экстрагирования	Процентное содержание полисахаридов
1	30	3,65
2	60	5,38
3	90	7,81
4	120	8,37

В дальнейшем исходя из литературных источников для осаждения полисахаридов из водных извлечений мы брали 96%-й спирт этиловый [9]. Были проведены исследования

оптимального соотношения спирта этилового и извлечения, обеспечивающего максимальное осаждение полисахаридов из извлечения. Результаты представлены в таблице 3.

По данным таблицы 3 полнота осаждения полисахаридов достигается при использовании четырехкратного количества 95%-го спирта этилового.

Таблица 3

Зависимость между полнотой осаждения суммы полисахаридов и объема спирта этилового 95%

Table 3

The dependence of the completeness of the precipitation amounts of the polysaccharides on the volume of ethyl alcohol

Оптимальное соотношение извлечения и спирта этилового 95%	Содержание суммы полисахаридов, %
1:1	2,87
1:2	4,64
1:3	5,96
1:4	10,04

Проделанная работа по совершенствованию условий экстракции и осаждения полисахаридов дали нам возможность создать методику количественного определения полисахаридов в листьях растений рода медуница [3, 4].

Аналитическую пробу сырья измельчили до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Навеску 5,0 г измельченного сырья поместили в колбу вместимостью 250 мл, далее добавили 100 мл воды и присоединили к обратному холодильнику и затем кипятили на электрической плитке (водяной бане) в течение 30 минут. Экстракцию повторили трижды по 100 мл в течение 30 минут. Полученные водные извлечения объединили, затем центрифугировали при частоте вращения 5000 об/мин 10 минут и отфильтровали в мерную колбу 500 мл через пять слоев марли, которую предварительно смочили водой. Фильтр промыли водой и довели объем раствора водой до метки - получили раствор А.

Затем взяли 25 мл раствора А поместили в центрифужную пробирку, прибавили 100 мл 95% спирта этилового, подогрели на водяной бане температура 600 °С, 5 минут. Затем 30 минут центрифугировали с частотой вращения 5000 об/мин в течение получаса.

Полученную надосадочную жидкость подвергли фильтрации под вакуумом, остаточное давление 13-16 кПа, через высушенный до постоянной массы при температуре 100-150 °С стеклянный фильтр ПОР 16 с диаметром 40 мм. далее осадок количественно перенесли на фильтр, затем промыли 15 мл смеси спирта этилового 95%-го и воды (3:1). Затем фильтр с осадком

высушили на воздухе, при температуре 100-105 °С до постоянной массы.

Затем содержание полисахаридов в пересчете на абсолютно сухое сырье в % (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 500 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W) \cdot 25}$$

где: m – масса сырья, г;

m_1 – масса фильтра, г;

m_2 – масса фильтра с осадком, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Результаты исследования и их обсуждение

Данной методикой провели анализ листьев медуницы неясной собранных из различных мест произрастания и в различное время сбора сырья.

Полученные данные количественного определения суммы полисахаридов в листьях медуницы неясной приведены в таблице 4.

В результате, исходя из таблицы 4 мы видим, что содержание суммы полисахаридов варьирует в пределах от 9,63% до 10,98%. Следовательно установлены нормы содержания суммы полисахаридов не менее 9% [2].

Ошибка метода количественного определения суммы полисахаридов не превышает 4,74% (таблица 4).

Таблица 4

Содержание суммы полисахаридов в листьях медуницы (n=5, P= 95%)

Table 4

The content of total polysaccharides in the leaves of lungwort (n=5, P= 95%)

№ п/п	Наименование сырья	Место сбора сырья	Метрологическая характеристика методики				
			X, %	S ²	S	Δx	Еотн, %
1	Медуница неясная	Окрестности г.Белгорода, 2014 г.	10,98	0,0358	0,1870	0,5200	4,74
2	Медуница неясная	Белгород, Ботанический сад, 2015 г.	10,90	0,0130	0,1140	0,3200	2,94
3	Медуница неясная	Белгород, Ботанический сад, 2016 г.	9,63	0,0111	0,1054	0,2900	3,01
4	Медуница неясная	Окрестности г.Белгорода, 2016 г.	9,80	0,0030	0,0550	0,1520	1,55

Таким образом, разработана методика гравиметрического определения суммы полисахаридов для лекарственного растительного сырья «Медуницы листья». Содержание суммы полисахаридов в листьях медуницы неясной колеблется от 9,63% до 10,98%. Основываясь на эти данные, установлена норма содержания полисахаридов, не менее 9%.

Заключение

Лекарственные растения являются одним из источников получения новейших лекарственных средств. Исследование новейших лекарственных растений с перспективой формирования их дальнейшего употребления в медицинской практике и создания на их основе результативных фитопрепаратов для дальнейшего лечения, а также профилактики заболеваний, на данный момент, является одной из главных задач. Для решения поставленной задачи необходимо использовать опыт как народной медицины, так и новейшие достижения фармацевтической науки, практики.

Для реальной оценки качества листьев растений рода медуница разработаны методики гравиметрического определения суммы полисахаридов. Основываясь на полученные результаты можно говорить о перспективности данного вида сырья как источника полисахаридов

и рекомендовать для дальнейших химических и фармакологических испытаний.

Список литературы

1. Беляков К.В., Попов Д.М. Количественное определение полисахаридов в листьях мать-и-мачехи (*Tussilago farfara* L.) // Фармация. 1999. №1. С.23-24.
2. Бубенчикова В.Н., Казакова В.С. Изучение качественного и количественного состава флавоноидных соединений медуницы неясной // Тр. 2 Междунар. науч. краевед. конф. «Краеведение в Курском крае: прошлое и современность. Межрегиональные связи». Курск, 2007. С. 44-46.
3. Бубенчикова В.Н., Казакова В.С. Медуница – новый источник флавоноидов и полисахаридов // Фармация. М.: Русский врач, 2008. С.19-21.
4. Бубенчикова В.Н., Понарьина Ю.А., Казакова В.С. Полисахаридный и аминокислотный состав растений рода медуница и // XV Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство»: тез. докл. М., 2008. 596 с.
5. Валов Р.И., Ханина М.А. Фармакогностический анализ травы хамериона узколистного (*Chamerion angustifolium* (L.) Holub) // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. / Пятигорская фармацевт. акад. Пятигорск, 2007. С. 23-24.
6. Государственная фармакопея Российской Федерации. Том 2 / МЗ РФ. XIII изд., М. 2015. 1004 с.

7. Государственная фармакопея СССР. Вып.1: Общие методы анализа / МЗ СССР. 11-е изд. доп. М.: Медицина, 1987. 336 с.

8. Государственная фармакопея СССР. Вып.2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. 11-е изд. доп. М.: Медицина, 1989. 400 с.

9. Енгальчева Е.И., Линевиц Л.И., Ладыгина Е.Я. Полисахариды из листьев мать-и-мачехи // Фармация. 1984. №3. С.13-16.

10. Иллюстрированный определитель растений Средней России / И.А. Губанов, К.В. Кисилева, В.С. Новиков, В.Н. Тихомиров. – М.: Изд-во: Товарищество научных изданий КМК, Институт технологических исследований, 2002. Т.3. С.104-105.

11. Полуянов А.В., Прудников Н.А. Сосудистые растения Курской области // Учебное пособие. Курск: КГУ, 2005. 80 с.

12. Пономарев, В.Д. Экстрагирование лекарственного растительного сырья. М.: Медицина, 1978. 204 с.

13. Смирнова Н.И., Лобанова И.Е., Анулов О.В. Галактоманнаны некоторых видов сем. Fabaceae // Раст. ресурсы. 1998. Т.34, вып.4. С.68-71.

14. British Herbal Pharmacopoeia – Bournemouth, ВРМА, 1983. 12 p.

References

1. Belyakov K.V., Popov D.M. Quantitative determination of polysaccharides in the leaves of falfara (*Tussilago farfara* L.). 1999. №1. Pp. 23-24.

2. Bubenchikova V.N., Kazakova V.S. The study of the qualitative and quantitative composition of flavonoid compounds of lungwort. Tr. 2 Intern. scientific. ethnographer. Conf. «Local interest in the Kursk province: the past and the present. Interregional ties» Kursk, 2007, Pp. 44-46.

3. Bubenchikova V.N., Kazakova V.S. Lungwort - a new source of flavonoids and polysaccharides. Pharmacy. M.: Russian Doctor, 2008. Pp.19-21.

4. Bubenchikova V.N., Ponarina Yu.A., Kazakova V.S. The polysaccharide and the amino acid composition of plants of the genus *Pulmonaria* and *bedstraw*. XV Ros. nat. Congreve. «Man and Medicine»: Proc. rep. M., 2008. 596 p.

5. Valov R.I., Hanin M.A. Farmacognostic analysis of the narrow-leaved willow herb (*Chamerion angustifolium* (L.) Holub). Development, research and marketing of new pharmaceutical products: Sat. scientific. tr. Pyatigorsk pharmacist. Acad. Pyatigorsk, 2007. Pp. 23-24.

6. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Volume 2. Thirteenth ed., M. 2015, 1004 p.

7. The State Pharmacopoeia of the USSR. Issue 1: General methods of analysis. USSR Ministry of Health. 11th ed. ext. M.: Medicine, 1987. 336 p.

8. The State Pharmacopoeia of the USSR. Issue 2: General methods of analysis. HERBAL RAW MATERIAL. USSR Ministry of Health. 11th ed. ext. M.: Medicine, 1989. 400 p.

9. Engalycheva E.I., Linevich L.I., Ladygina E.Y. Polysaccharides of the leaves of falfara. Pharmacy. 1984. №3. Pp.13-16.

10. Illustrated Guide of Plants in Middle Russia / I.A. Gubanov, K.V. Kisileva, V.S. Novikov, V.N. Tikhomirov. M.: Publishing House: Association of scientific editions KMK, Institute of Technological Studies, 2002. Vol.3. Pp.104-105.

11. Poluyanov A.V., Prudnikov N.A. Vascular plants of Kursk Region. Textbook. Kursk: KSU, 2005. 80 p.

12. Ponomarev V.D. Extraction of medicinal plants. M.: Medicine, 1978. 204.

13. Smirnov N.I., Lobanov I.E., Anulov O.V. Galactomannanes of some species of the Fabaceae family. Herbal resources. T.34 1998, Issue 4. Pp. 68-71.

14. British Herbal Pharmacopoeia - Bournemouth, ВРМА, 1983. 12 p.

Казакова Валентина Сергеевна доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, кандидат фармацевтических наук

Новиков Олег Олегович заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, профессор

Фадеева Дарья Александровна старший преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, кандидат фармацевтических наук

Шестопалова Наталья Николаевна доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

Малютина Анастасия Юрьевна старший преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, кандидат фармацевтических наук

Иванова Лариса Леонидовна ассистент кафедры фармацевтической технологии

Иванова Вероника Эдуардовна студентка четвертого года обучения медицинского института

Kazakova Valentina Sergeevna Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, PhD in Pharmacy

Novikov Oleg Olegovich Head of Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Doctor of Pharmacy, Professor

Fadeeva Darya Alexandrovna Senior Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, PhD in Pharmacy

Shestopalova Nataliya Nikolaevna Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, PhD in Agricultural Sciences, Associate Professor

Malyutina Anastasiya Yurievna Senior Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, PhD in Pharmacy

Ivanova Larisa Leonidovna Assistant Lecturer, Department of Pharmaceutical Technology

Ivanova Veronika Eduardovna 4th Student, Medical Institute