

СТАТЬИ

УДК 547.917(575.2)

**ГЛЮКОФРУКТАНЫ РАСТЕНИЙ *HELIANTHUS TUBEROSUS*,
ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В КЫРГЫЗСТАНЕ**

¹Турдумамбетов К.Т., ²Ажибаева З.С., ¹Бекмуратов З.Б., ¹Долотбаков А.К.

¹Институт химии и фитотехнологии НАН Кыргызской Республики, Бишкек,
e-mail: him-teh-ugl@mail.ru;

²Ошский государственный университет, Ош, e-mail: zulaika75@mail.ru

В настоящей работе рассмотрена схема разделения углеводов и других физиологически активных веществ. Известно, что из сока *Helianthus tuberosus* был выделен фруктозан, однако строение и физико-химические свойства глюкофруктанов, содержащихся в этом растении, произрастающем на территории Кыргызстана, еще не изучены. Объектом исследования явились воздушно-сухие измельченные клубни и надземные части *H. tuberosus* (сорт Кыргызский белый), заготовленного в фазе конца плодоношения и начала отмирания надземной части. Результаты исследования позволили установить, что в корнях преобладают водорастворимые полисахариды (24,5%). При полном кислотном гидролизе образцов исходного полисахарида при помощи бумажной хроматографии в их составе были идентифицированы глюкоза и фруктоза, что подтверждает их отнесение к глюкофруктанам (ГФ). Гель-хроматографией на сефадексе G-75 было установлено, что выделенные ГФ, полидисперсные, их средневесовые молекулярные массы варьируют в пределах от 12500 до 21200. С целью разделения ГФ *H. tuberosus* было проведено их дробное осаждение раствором этилового спирта, при этом были получены пять фракций. Таким образом, в результате кислотного гидролиза, периодатного окисления, метилирования по Хакомори и ИК-спектроскопии установлено, что глюкофруктаны, выделенные из растительного сырья *H. tuberosus* сорта Кыргызский белый относятся к глюкофруктанам инулиновой структуры и состоят из D-фруктофуранозных остатков с β -(2 \rightarrow 1) гликозидными связями. Основные фракции полисахаридов отличаются между собой по количественному содержанию фруктозы и степени полимеризации. Клубни растений являются источником сырья для получения фруктозных сиропов и D-фруктозы.

Ключевые слова: *Helianthus tuberosus*, водорастворимые полисахариды, глюкофруктаны, метилирование, периодатное окисление, фруктозный сироп

**GLUCOFRUCTANTS OF PLANTS *HELIANTHUS TUBEROSUS*
GROWING IN KYRGYZSTAN**

¹Turдумамбетов К.Т., ²Azhibayeva Z.S., ¹Bekmuratov Z.B., ¹Dolotbakov A.K.

¹Institute of Chemistry and Phytotechnology, National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic,
Bishkek, e-mail: him-teh-ugl@mail.ru;

²Osh State University, Kyrgyzstan, Osh, e-mail: zulaika75@mail.ru

In the present work scheme of the separation of carbohydrates and physiologically active substances are considered. It is known that from the juice *Helianthus Tuberosus* was isolated fructosan, but the structure and physico-chemical properties of glucofructans, which are found in that plant, which are growing in the territory of Kyrgyzstan, have not been studied yet. The object of research was air dry shredded tubers and above ground parts of *H. Tuberosus* (variety Kyrgyz White), harvesting in the phase of the end fruiting and the beginning of the dying off the above ground part. The research results allowed to establish that water-soluble polysaccharides prevail in the roots (24%). At full acid hydrolysis of the initial polysaccharides using paper chromatography, glucose and fructose are detected, which confirms they are glucofructanes (GF). Gel chromatography on Sephadex G-75 revealed that the isolated GF, polydisperse, their molecular weights vary from 12,500 to 21,200. Their fractional precipitation was performed with a solution of ethyl alcohol, while received five fractions. Thus, according to acid hydrolysis, specific rotation angle, periodate oxidation, Khakomori methylation, GLC and IR spectroscopy of the GF fractions 3, 4, 5, isolated from *H. Tuberosus* of the Kirgiz white variety in the phase of dying off the above ground part consists of fructofuranous residues of the inulin type β -(2 \rightarrow 1) with glycosidic bonds. The fractions differ in the content of fructose and the degree of polymerization. Tubers of plants are a source of raw materials for the production of fructose syrups and D-fructose.

Keywords: *Helianthus tuberosus*, water soluble polysaccharides, glucofructans, methylation, periodateoxidation, fructose syrup

Полисахариды растений, особенно фруктозосодержащие углеводы, вызывают интерес как вещества, обладающие широким спектром фармакологического действия [1–3]. Известны данные о применении растительных полисахаридов в пищевой промышленности при производ-

стве молока и молочных продуктов, сыра, масла и хлебных изделий в связи с выраженной пребиотической активностью. Известно, что растительные полимеры обладают иммуномодулирующей активностью, так как благоприятно действуют на рост бифидо- и лактобактерий [4].

Приоритетным направлением в изучении углеводов является поиск новых фруктозосодержащих полисахаридов, которые обладают физиологической активностью [5].

Топинамбур – весьма распространенное, многолетнее, лекарственное, травянистое растение. В современной народной медицине листья топинамбура рекомендуют при лечении заболеваний суставов, остеохондрозе, полиартрите, благодаря наличию большого количества биологически активных веществ [6]. Работы авторов [7, 8] посвящены качественному и количественному изучению лекарственного растительного сырья топинамбура и перспективности создания на его основе новых фитопрепаратов лечебного и профилактического действия.

Известно, что из сока *H. tuberosus* был выделен фруктозан, однако строение и физико-химические свойства глюкофруктанов, содержащихся в этом растении, произрастающем на территории Кыргызстана, еще не изучены.

Цель исследования: выделение водорастворимых полисахаридов и изучение структуры глюкофруктанов *H. tuberosus* (сорт Кыргызский белый).

Материалы и методы исследования

Объектом исследования явились воздушно-сухие измельченные клубни и надземные части *H. tuberosus* (сорт Кыргызский белый), заготовленного в фазе конца плодоношения и начала отмирания надземной части.

Выделение глюкофруктанов. Предварительную обработку растительного сырья, экстракцию и фракционное осаждение полисахаридов проводили по известной методике [9].

Воздушно-сухой, измельченный растительный материал массой 250 г последовательно промывали от низкомолекулярных соединений такими растворителями, как хлороформ, гексан и этанол (96 % и 82 %). Для получения суммарного препарата водорастворимых полисахаридов (ВРПС) шрот, оставшийся после удаления низкомолекулярных соединений, экстрагировали водой при нагревании 75–80 °С в течение 1 ч при постоянном перемешивании.

Молекулярно-массовые распределения определены методом эксклюзионной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе. Навеску 0,02 г образцов отдельных фракций глюкофруктанов растворяли в 2 мл воды. Длина и внутренний диаметр хроматографических колонок с сефадексом G-75 составляли 540 и 12 мм. Они были калиброваны пропусканием стандар-

тов декстранов с ММ 40000 ($V_c = 16,5$ мл), 20000 ($V_c = 31,7$ мл) и 10000 ($V_c = 38,8$ мл). Молекулярная масса индивидуальных полисахаридов составляла 12000–20200.

При фракционном осаждении возрастающими количествами этанола, из водного раствора глюкофруктана были получены четыре фракции. Каждая полученная фракция была отделена центрифугированием, затем промывали этанолом и ацетоном. Оптическое вращение образцов полисахаридов измеряли на сахариметре СУ-3. ИК-спектры полисахаридных препаратов снимали в виде таблетки с бромидом калия (КВг) на приборе UR-20 в диапазоне частот 400–4000 см^{-1} .

На газовом хроматографе Цвет-101 с пламенно-ионизационным детектором выполняли газожидкостную хроматографию (ГЖХ) образцов. Колонки длиной 1 м были заполнены хроматоном W-AW-DMCS с 20%-ным поли-1,4-бутандиолсукцинимид, изотермический режим при 190 °С, расход газа-носителя (гелий) – 55–60 мл/мин.

БХ (бумажная хроматография) была выполнена на бумаге марки Filtrax FN-11, нисходящим методом в системе растворителей н-бутанол – пиридин – вода 6:4:3, проявитель – кислый анилин-фталат. ТСХ (тонкослойную хроматографию) проводили на силуфоле UV-254 (Chemapol). Для обнаружения соединений применяли следующие проявители: 1) кислый анилинфталат; 2) периодат натрия; 3) марганцовокислый калий 1 %; 4) концентрированная серная кислота.

Кислотный гидролиз. Для определения моносахаридного состава проводили полный кислотный гидролиз образцов полисахаридов 0,5 М раствором соляной кислоты при 100 °С на водяной бане в течение 45 мин. Их мономерный состав устанавливали методом БХ в системе растворителей бутанол – пиридин – вода 6:4:3 параллельно с образцами сахаров. На хроматограммах были обнаружены фруктоза и следы глюкозы.

Периодатное окисление. Для периодатного окисления глюкофруктана 0,1 г образцов растворяли в 25 мл воды, добавляли 20 мл 0,1 М раствора периодата натрия. Смесь выдерживали в темноте при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Через сутки отбирали пробы на анализ. Расход периодата натрия оставался постоянным и далее не изменялся. Выделившуюся муравьиную кислоту определяли титрованием 0,1 н раствором едкого натрия.

Метилирование. Для выяснения природы межмоносахаридных связей в молекулах глюкофруктана был применен метод метилирования по Хакомори. Методика ме-

тирования и анализ продуктов гидролиза метилированного продукта ТСХ и количественное соотношение метилированных соединений ГЖХ, использовались аналогично описанным в одной из предыдущих работ [10]. Дезацетилирование и превращение метильных групп в метиловые эфиры достигалось в результате двукратной обработки полисахарида метилиодидом и щелочью в диметилсульфоксиде.

Результаты исследования и их обсуждение

Из растительного сырья *H. tuberosus* последовательно выделены спирторастворимые олигосахариды (СРС), сесквитерпеновые лактоны (СЛ), водорастворимые полисахариды (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ) и гемицеллюлоза (ГЦ).

Водорастворимые полисахариды выделяли из корней *H. tuberosus*, горячей водной экстракцией, предварительно обработанного растворителями сырья. В результате были получены образцы ВРПС с выходом 24,5% от массы сырья, представляющие собой гигроскопичные порошки белого цвета. Исследование моносахаридного состава ВРПС показало, что в гидролизатах образцов исходного полисахарида присутствуют только глюкоза и фруктоза, что подтверждает их отнесение к глюкофруктанам (ГФ).

Гель-хроматографией на сефадексе G-75 было установлено, что ГФ, выделенные из этого растения, полидисперсные, их средневесовые молекулярные массы (ММ) варьируют в пределах от 12600 до 21200. С целью разделения ГФ на фракции было проведено их дробное осаждение этанолом, при этом были получены пять фракций. Ус-

ловия экстракции и выход продуктов представлены в табл. 2.

Фракции 3, 4, 5 являются основными, так как составляют большую часть глюкофруктанов. В дальнейшем в работе мы использовали эти три фракции. Молекулярные массы фракций 3, 4, 5, определенные на сефадексе G-75, при сравнении с истинными декстранами с ММ 10000, 15000, 20000, 40000 и 10000, оказались однородными (табл. 2). По данным полного кислотного гидролиза мономерный состав этих фракций представлен фруктозой и глюкозой. Содержание фруктозы, определенное по методу Кольтгофа, находится в пределах 83,0–96,0%. Полисахариды имели отрицательный угол удельного вращения, $[\alpha]_D^{22} \sim -39^\circ$ (с.1,0; H₂O), указывающее D-конфигурацию остатков фруктозы и β-гликозидную связь, как и в других глюкофруктанах.

В ИК-спектрах полисахарида присутствовали полосы поглощения при 815, 865 и 940 см⁻¹, что типично для β-2→1 связи, характерные для глюкофруктанов типа инулина. Это предположение подтверждается данными периодатного окисления и методами метилирования. Легкость кислотного гидролиза и отрицательное значение угла удельного вращения глюкофруктанов позволяют сделать вывод о преобладании β-гликозидной связи между фруктофуранозными остатками.

При периодатном окислении фракций ВРПС расходовались 0,88–0,98 моль NaIO₄ на ангидрозвено, выделение муравьиной кислоты составило 0,042–0,043 моль/ангидрозвено (табл. 3). Установлено, что для полного окисления достаточно 120 ч, далее расход периодата натрия не менялся.

Таблица 1

Выделенные соединения из растений *H. tuberosus*, %

| Орган растения | СРС | СЛ | ВРПС | ПВ | ГЦ |
|-----------------|------|-----|------|-----|-----|
| Корни | 16,4 | 1,1 | 24,5 | 5,1 | 4,9 |
| Надземная часть | 12,6 | 0,9 | 7,4 | 2,6 | 4,2 |

Таблица 2

Фракционирование глюкофруктанов *H. tuberosus*

| Фракция | Количество этанола, мл | Соотношение экстракт: этанол | Выход, % | ММ | Фруктоза, % | $[\alpha]_D^{22}$ (с.1,0-H ₂ O) |
|---------|------------------------|------------------------------|----------|-------|-------------|--|
| 2 | 100 | 1:1 | 2,20 | 21200 | 83,0 | 38,8 |
| 3 | 150 | 1:1,5 | 26,5 | 14500 | 86,3 | 39,0 |
| 4 | 200 | 1:2 | 29,0 | 13500 | 91,5 | 39,0 |
| 5 | 250 | 1:2,5 | 42,0 | 12600 | 96,0 | 39,1 |

Таблица 3

Периодатное окисление фракций 3, 4, 5 глюкофруктанов *H. tuberosus*

| Фракция | Навеска, г | Время, ч | Расход NaIO ₄ , моль | Выделившаяся HCOOH, моль |
|---------|------------|----------|---------------------------------|--------------------------|
| 3 | 0,1 | 48 | 0,51 | |
| | | 72 | 0,79 | |
| | | 96 | 0,86 | |
| | | 120 | 0,88 | |
| 4 | 0,1 | 48 | 0,52 | – |
| | | 72 | 0,79 | – |
| | | 96 | 0,87 | – |
| | | 120 | 0,88 | 0,042 |
| 5 | 0,1 | 48 | 0,51 | – |
| | | 72 | 0,76 | – |
| | | 96 | 0,88 | – |
| | | 120 | 0,98 | 0,043 |

Таблица 4

Характеристика метилированных продуктов

| Фракция | Выход метилированных продуктов, % | [α] _D ²² хлороформ | Продукты гидролиза | Соотношение |
|---------|-----------------------------------|--|-------------------------------|-------------|
| 3 | 85,5 | -46,5 | 2,3,4,6-тетра-О-Ме-D-глюкоза | 1 |
| | | | 1,3,4,6-тетра-О-Ме-D-фруктоза | 4 |
| | | | 3,4,6-три-О-Ме-D-фруктоза | 11 |
| 4 | 85,0 | -47,0 | 2,3,4,6-тетра-О-Ме-D-глюкоза | 1 |
| | | | 1,3,4,6-тетра-О-Ме-D-фруктоза | 4 |
| | | | 3,4,6-три-О-Ме-D-фруктоза | 12,5 |
| 5 | 85,0 | -48,0 | 2,3,4,6-тетра-О-Ме-D-глюкоза | 1 |
| | | | 1,3,4,6-тетра-О-Ме-D-фруктоза | 4 |
| | | | 3,4,6-три-О-Ме-D-фруктоза | 12,5 |

Реакционную смесь восстанавливали борогидридом натрия методом распада по Смиру [11]. Во всех образцах с помощью бумажной хроматографии был обнаружен только глицерин, редуцирующие сахара отсутствовали. Присутствие глицерина указывало на наличие 2→1 связи между фруктофуранозными остатками, соединенными между собой линейно.

Для определения природы межмоносакхаридных связей в молекулах полисахарида был применен метод метилирования по Хакмори [12]. Для полного метилирования фракций достаточно было проведения двукратного метилирования. Полноту метилирования контролировали тонкослойной хроматографией.

В метилированных продуктах после формолиза с последующим гидролизом при помощи ТСХ (система метанол – хлороформ (1:9), проявитель – концентрированная H₂SO₄) обнаружили следующие перметилаты (табл. 4).

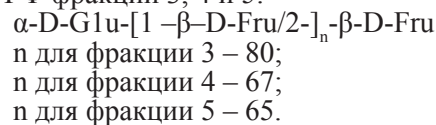
Были обнаружены следовые количества 1,3,4-три-О-Ме-D-фруктозы, что характерно для слабого разветвления между фруктофуранозными остатками ГФ, выделенного в период плодоношения. Для глюкофрукта-

нов, выделенных в фазе отмирания надземной части, во фракциях 3, 4 и 5, фруктофуранозные остатки соединены между собой линейно. Соотношение метилированных сахаров, определенное с помощью ГЖХ для фракций 3, 4, 5, соответствует следующим значениям: 1:4:10; 1:4:12 и 1:4:12. Присутствие в метилированных продуктах в 11 и 12,5 частях основного продукта 3,4,6-три-О-Ме-О-фруктозы указывает на β-(2→1) гликозидную связь между фруктофуранозными остатками [10].

Выводы

Таким образом, по данным физико-химических исследований, глюкофруктаны, выделенные из растительного сырья *H. tuberosus* сорта Киргизский белый, относятся к глюкофруктанам инулиновой структуры и состоят из D-фруктофуранозных остатков с β-(2→1) гликозидными связями.

Исходя из изложенных выше данных, можно предположить следующую структуру ГФ фракций 3, 4 и 5:



Список литературы

1. Лигачёва А.А. Иммунофармакологические свойства полисахаридов полыни горькой, клевера лугового, березы повислой: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2010. 22 с.
2. Сычев И.А., Калинин О.В., Лаксаева Е.А. Биологическая активность растительных полисахаридов // Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. 2009. № 4. С. 143–148.
3. Сафонова Е.А., Лопатина К.А., Федорова Е.П. Водорастворимые полисахариды мать-и-мачехи обыкновенной и айра болотного как корректоры гематотоксического эффекта паклитаксела // Сибирский онкологический журнал. 2009. № 1. С. 172–173.
4. Бельмер С.В., Гасилина Т.В. Пребиотики, инулин и детское питание // Вопросы современной педиатрии. 2010. № 3. С. 121–125.
5. Рахманбердиева Р.К., Филипов М.П. Исследование семян *Gleditsia macracantha* методом ИК-спектроскопии // Химия природного соединения. 2011. № 2. С. 166–168.
6. Кароматов И.Дж., Истамова Ф.М. Лекарственное растение подсолнечник клубненосный, топинамбур, земляная груша // Биология и интегративная медицина. 2017. № 5. С. 115–125.
7. Леонтьев В.Н., Дубарь Д.А., Лугин В.Г., Феськова Е.В., Игнатовец О.С., Титок В.В. Биологический потенциал топинамбура как исходного сырья для пищевой и фармацевтической промышленности // Труды БГТУ. Серия 2: Химические технологии, биотехнология, геоэкология. 2014. № 4. С. 227–230.
8. Саякова Г.М., Великая Т.В. Перспективное создание новых лекарственных форм из отечественного растительного сырья – топинамбура // Вестник КазНМУ. 2014. № 1. С. 343–345.
9. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М. Методика количественного определения суммарного содержания полифруктанов в корнях Лопуха (*Arctium* Spp) // Химия растительного сырья. 2010. № 1. С. 115–120.
10. Ажибаева З.С. Полисахариды *Acanthophyllum Subglabrum* и структура глюкоарабиногалактана // Изв. вузов. 2011. № 3. С. 129–132.
11. Smith F., Montgomery R. The chemistry of plant gums and Mucilages and some related polysaccharides. Reinold Publishing corp: New York – London, 1959. V. 6. P. 197–201.
12. Nakomori S.A. Rapid permethylation of glucolipid and polysaccharides, catalized by methyl Sulfinylcarbanion in dimetul sulfoxide. J. Biochem (Tokyo). 1964. V. 55. P. 205–208.