

УДК 547.917

\*Г.А. Сейтимова<sup>1</sup>, Б.К. Ескалиева<sup>1</sup>, И.М. Чаудри<sup>2</sup>, Г.Ш. Бурашева<sup>1</sup><sup>1</sup>Казахский национальный университет имени аль-Фараби, факультет химии и химической технологии, Казахстан, г. Алматы<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт химии, Центр доктора Пэнджвани молекулярного исследования лекарств и препаратов, Университет Карачи, Пакистан, Карачи

\*E-mail: sitigulnaz@mail.ru

**Углеводно-белковый комплекс шрота климакоптера туполистной (*climacoptera obtusifolia*)**

Фитопрепарат из растения рода *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая) семейства Маревых (*Chenopodiaceae*) проявляет антидиабетическое действие. Впервые из шрота *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая) получен и изучен углеводно-белковый комплекс. Установлено, что количество экстрактивных веществ в надземной части растительного сырья составляет 52,6%, а в шроте – 12,35%. Разработана методика выделения углеводно-белкового комплекса из шрота *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая), с использованием классических и физико-химических методов. Определен состав углеводно-белкового комплекса: олигосахарид, полисахарид и два гликопротеина.

**Ключевые слова:** *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая), *Chenopodiaceae*, полисахарид, олигосахарид, гликопротеин.

G.A. Seitimova, B.K. Yeskaliyeva, I.M. Choudhary, G.Sh. Burasheva

**Carbohydrate – protein complex of the waste of *climacoptera obtusifolia***

Extract from *Climacoptera obtusifolia* family *Chenopodiaceae* has antidiabetic activity. For the first time carbohydrate-protein complex of the waste from *Climacoptera obtusifolia* was studied. It was found that the quantity of extractive substances with 80% ethanol in aerial part – 52,6% and in the waste – 12,35%. The technique of separation of the carbohydrate-protein complex from the waste from *Climacoptera obtusifolia* is developed by means of classical and physical-chemical methods. The composition of carbohydrate-protein complex was identified: oligosaccharide, polysaccharide and two glycoproteins.

**Keywords:** *Climacoptera obtusifolia*, *Chenopodiaceae*, oligosaccharide, polysaccharide, glycoprotein.

Г.А. Сейтимова, Б.К. Ескалиева, И.М. Чаудри, Г.Ш. Бурашева

**Балықкөз (климакоптера туполистая – *climacoptera obtusifolia*) өсімдігінің қалдығындағы көмірсу-ақуызды кешені**

Алабұта (*Chenopodiaceae*) тұқымдас балықкөз (*Climacoptera obtusifolia*-Климакоптера туполистая) өсімдігінен алынған фитопрепарат сусамыр ауруына қарсы әсер көрсетеді. Алғаш рет балықкөз (*Climacoptera obtusifolia*-Климакоптера туполистая) өсімдігінің қалдығындағы көмірсу-ақуызды кешені зерттелінді. Өсімдік шикізатының жер үсті бөлігінде экстрактивті заттар мөлшері 52,6% құраса, ал қалдығында 12,35% болатыны анықталды. Балықкөз (*Climacoptera obtusifolia*-Климакоптера туполистая) өсімдігінің қалдығындағы көмірсу-ақуызды кешенді бөлудің әдісі жасалды, классикалық және физика-химиялық әдістерді қолдана отырып, көмірсу-ақуызды кешен құрамы сарапталып, олигосахарид, полисахарид және екі гликопротеин бар екені анықталды.

**Түйін сөздер:** *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая), *Chenopodiaceae*, полисахарид, олигосахарид, гликопротеин.

**Введение**

Углеводно-белковые комплексы как лекарственные средства различной направленности действия в настоящее время привлекают все большее внимание. Водорастворимые полисахариды

растительного происхождения представляют интерес как потенциальные биостимуляторы, обладающие иммуностимулирующей, противоопухолевой [1, 2], противовоспалительной [3], гипогликемической [4], рострегулирующей [5] и антикоагулянтной [6] активностью. Изучение

полисахаридов растений, используемых в народной медицине, имеет важное значение для технологии разработки новых лекарственных препаратов.

В последние годы расширяются исследования дикорастущих растений, широко произрастающих на засоленных и засушливых почвах Республики Казахстан и адаптировавшихся к экстремальным условиям. Растения рода Климакоптера (*Climacoptera*) насчитывают 23 вида, в Казахстане встречается 14 видов. Казахские виды растений рода *Climacoptera* (Климакоптера) систематическому исследованию не были подвергнуты.

Известно, что *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая) издавна используется для кустарной добычи соды, является осенним и зимним кормом для верблюдов. Химические анализы большинства растений семейства Маревых указывают на их высокую питательную ценность [7]. Авторами обнаружено, что содержащиеся в *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая) фармакологически активные вещества обладают антидиабетической [8], противоопухолевой активностью. Ранее из надземной части растения рода *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая) было выделено антидиабетическое средство.

Затем с целью обеспечения безотходного производства изучен шрот, который получен после обработки исследуемого объекта 80%-ным водным спиртом. Шрот из растения рода *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая) содержит комплекс полисахаридов и гликопротеинов, который имеет важное значение для создания из отходов нового фармацевтического средства, и этим самым позволяет увеличить ценность растительного сырья *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая).

Поэтому изучение химического состава самого сырья и его отходов, разработка методов выделения биологически активных веществ и исследование биологической активности с целью выделения новых лекарственных средств и фитопрепаратов является актуальным.

В данном материале рассматриваются результаты исследования углеводно-белкового комплекса шрота *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая), собранной в фазу цветения 2011 году в Алматинской и Западно-Казахстанской областях.

## Экспериментальная часть и обсуждение результатов

Объекты исследования – надземные части трех видов растений рода *Climacoptera* (Климакоптера) *C. obtusifolia* (К. туполистая), *C. ferganica* (К. ферганская), *C. lanata* (К. шерстистая), заготовленные в фазу цветения в Алматинской и Западно-Казахстанской областях. Сырье собрано и высушено в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи РК I издания [9].

Цель исследования – разработка методики выделения углеводно-белкового комплекса из шрота *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая) семейства Маревых (*Chenopodiaceae*) и изучение его состава.

Для достижения цели поставлены следующие задачи:

- провести сравнительный анализ некоторых растений рода *Climacoptera* (Климакоптера) *C. obtusifolia* (К. туполистая), *C. ferganica* (К. ферганская), *C. lanata* (К. шерстистая);

- разработать методику выделения углеводно-белкового комплекса;

- провести химический анализ углеводно-белкового комплекса.

По общепринятым методикам I издания ГФ РК, ГОСТ 24027.1-80; 2407.1-80; 2237-75 в исследуемом сырье определены: подлинность сырья, потеря в массе при высушивании, экстрактивные вещества, общая зола. Данные количественного определения представлены в таблице 1. Из таблицы 1 следует, что по количественному содержанию таких групп соединений, как флавоноиды, фенолы, аминокислоты, органические кислоты особых различий нет. В растении рода *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая) по сравнению с растением рода *Climacoptera ferganica* (Климакоптера ферганская) обнаружены сапонины в достаточном количестве.

*Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая): влажность – 7,8%; зольность – 41,9%; экстрактивные вещества – 52,6%; дубильные вещества – 1,4%; углеводы – 1,8%; сапонины – 3,6%; флавоноиды – 1,4%.

*Climacoptera ferganica* (Климакоптера ферганская): влажность – 5,3%, зольность – 39,8%, экстрактивные вещества – 64,6%, дубильные вещества – 1,2%, углеводы – 1,8%, сапонины – 2,3%, флавоноиды – 1,2%;

*Climacoptera lanata* (Климакоптера шерстистая): влажность – 4,2%; зольность – 13,8%; экстрактивные вещества – 28,8%; дубильные вещества – 1,4%; углеводы – 1,8%; сапонины – 3,4%; флавоноиды – 1,3% [10].

С целью получения биологически активных комплексов, подвергнуты обработке все три вида растений рода *Climacoptera* (Климакоптера) *C. obtusifolia* (К. туполистая), *C. ferganica* (К. ферганская), *C. lanata* (К. шерстистая). Измельченное воздушно-сухое сырье подвергнуто экстрагированию методом настаивания 80%-ным водным метанолом, при комнатной температуре в течение 3 суток. Экстракцию повторяют дважды. Объединенный экстракт концентрируют и последовательно экстрагируют петро-

лейным эфиром, хлороформом, этилацетатом и н-бутанолом, в результате которого получены 12 рабочих экстрактов. На основании данных количественного определения экстрактивных веществ, аминокислот, флавоноидов, углеводов растительного сырья и шрота *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая) установили, что экстрактивных веществ в сырье – 52,6%, а в шроте – 12,35%.

Сравнительный качественный фитохимический анализ всех трех видов растений рода *Climacoptera* (Климакоптера) на наличие биологически активных веществ указывает, что все виды являются перспективными, однако запасы растительных объектов позволяют выбрать только – *C. obtusifolia* (К. туполистая).

**Таблица 1** – Количественное содержание основных групп БАВ и показатели доброкачественности сырья в надземных массах растений рода *Climacoptera* (Климакоптера)

Название Растения	Показатели доброкачественности сырья			Количественное содержание основных групп БАВ, (%)							
	Влажность	Общая зола	Экстр. вещества 80% - вод-сп.	Сапонины	Флавоноиды	Фенолы	Аминокислоты	Углеводы	Карбоновые кислоты	Кумарины	Алкалоиды
<i>C. obtusifolia</i> (К. туполистая)	7.8	41.9	52.6	3.6	1.4	2.2	0.3	1.8	0.7	0.1	0.6
<i>C. ferganica</i> (К. ферганская)	5.3	39.8	64.6	2.3	1.2	2.3	0.3	1.8	0.5	0.1	0.8
<i>C. lanata</i> (К. шерстистая)	4.2	13.8	28.8	3.4	1.3	2.5	0.2	1.2	1.1	0.1	0.8

Углеводно-белковый комплекс из шрота получают методом экстракции горячей водой (80°C) в течение двух часов. Водный экстракт после фильтрации концентрируют до сиропообразного состояния и подкисляют трихлоруксусной кислотой. Водорастворимые полисахариды осаждают четырехкратным количеством этилового спирта. Осадок полисахаридов отделяют центрифугированием, промывают этиловым спиртом и сушат.

Углеводно-белковый комплекс – порошок светло коричневого цвета. Установлено, что при гель – хроматографии на сефадексе марки G - 50, 150 водорастворимый полисахаридный ком-

плекс оказался полидисперсным. Получены четыре фракции углеводов, различающихся между собой молекулярной массой. Из исследуемых фракций полисахариды получены переосаждением этиловым спиртом.

Для установления моносахаридного состава образцы, полученные после переосаждения полисахаридов, подвергнуты кислотному гидролизу 5%, 2 и 5н HCl при 100°C. Идентификация свободных моносахаридов после гидролиза полисахаридов проведены методом хроматографии на бумаге в системах: н – бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:5), н – бутанол – пиридин – вода (6:4:3) (рисунок 1).

Определение конфигурации гликозидной связи и порядка связи между моносахаридными остатками в исследуемом комплексе полисахаридов подвергнуты щелочному гидролизу 0,1 н NaOH при 100°C и ферментативному гидролизу с  $\alpha$ -амилазой,  $\beta$ -эмульсином и рамнодиастазой при 37°C.

Следовательно, с использованием адсорбционно-распределительной хроматографии и классических методов анализа выделены следующие вещества из шрота надземной части растения рода *Climacoptera* (Климакоптера), *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая).

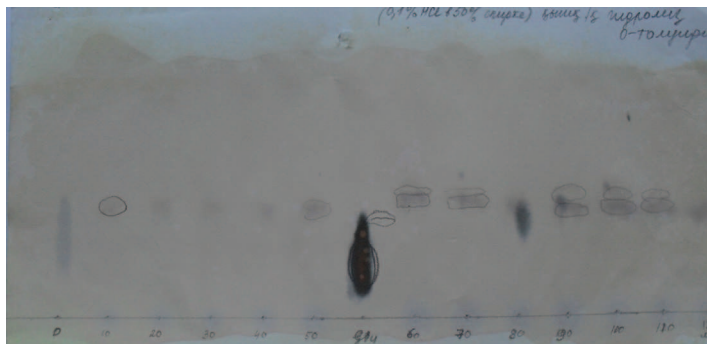


Рисунок 1 – Бумажная хроматограмма стадийного кислотного гидролиза

Вещество 1 – белый кристаллический порошок, хорошо растворим в воде,  $T_{\text{разл.}} = 248^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha] = 40^\circ$  (с. 3.0; вода). ИК – спектр в таблетках KBr: 730, 770, 840, 890, 1000-1100, 1480, 1700, 3400  $\text{cm}^{-1}$ .

Вещество 2 – белый аморфный порошок,  $T_{\text{разл.}} = 252^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha] = 33,3^\circ$  (с. 3.0; вода). В ПМР-спектре имеются интенсивные сигналы аномерных протонов при 5,25 м.д. – глюкозы, 5,00 м.д. – ксилозы и сигналы кольцевых протонов сахаров при 4.91, 4.40, 4.30, 3.93, 3.83 м.д. По инте-

гральной кривой сигнал аномерного протона соответствует 15 (3:12) протонам, следовательно, полисахарид состоит из 15 мономерных единиц. Результаты стадийного гидролиза указывают, что мономерными осколками являются ксилоза и глюкоза (в соотношении 3:1).

Вещество 3 – аморфный порошок кремового цвета,  $T_{\text{разл.}} = 145^\circ\text{C}$ . ИК – спектр в таблетках KBr: 780, 848, 1000-1100, 1445, 1630, 1695, 1730, 1740, 2170, 3414, 3400, 3460  $\text{cm}^{-1}$  (рисунок 2).

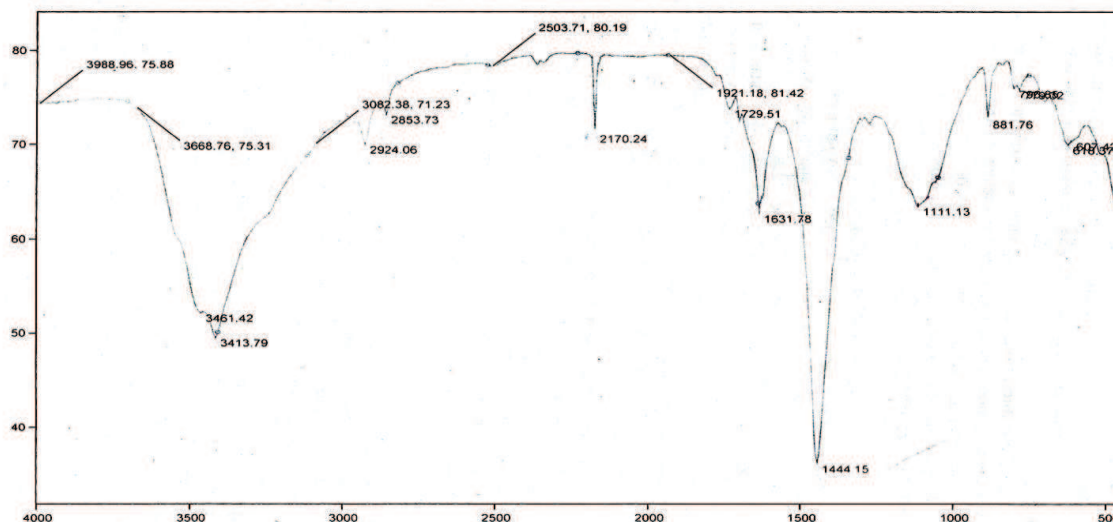


Рисунок 2 – ИК – спектр вещества 3

Вещество 4 – аморфный порошок кремового цвета,  $T_{\text{разл.}} = 276^{\circ}\text{C}$ . ИК – спектр в таблетках KBr: 730, 840, 890, 1050-1100, 1475, 1630, 1695, 3320, 3550  $\text{cm}^{-1}$ .

В результате щелочного гидролиза 0,1 н

NaOH при  $100^{\circ}\text{C}$ , обнаружены следующие аминокислоты: аланин, аргинин, гистидин, пролин, глутаминовая кислота. Результаты хроматографического исследования кислотного и щелочного гидролизом приведены в таблицах 2, 3.

**Таблица 2** – Результаты кислотного гидролиза в веществах 1- 4

Углеводы	Величина $R_f$	Окрашивание (о-толуидин)	Окрашивание (нингидрин)
Глюкоза	0,47	Зеленое	-
Ксилоза	0,42	Малиновое	-
Глюкозамин	0,46	Зеленое	Фиолетово-малиновое
Рамноза	0,64	Коричневое	-
2, 6-дезоксисахар	0,66	Светло-коричневое	-
Глюкоурононая кислота	0,38	Розово-малиновое	-

**Таблица 3** – Результаты щелочного гидролиза в веществах 1- 4

Аминокислоты	Величина $R_f$	Окрашивание (нингидрин)
Аланин	0,23	Фиолетовое
Аргинин	0,33	Фиолетовое
Гистидин	0,25	Темно-фиолетовое
Пролин	0,17	Желтое
Глутаминовая кислота	0,28	Фиолетовое

Таким образом, на основании стадийного, щелочного и ферментативного гидролизом, данных ИК – и ПМР – спектроскопии установлены:

Вещество 1 является олигосахаридом, в состав которого входят  $\beta$  – D – ксилоза, 2, 6 – дезоксисахар и глюкоурононая кислота.

Вещество 2 является разветвленным полисахаридом глюкосиланом, основная цепь которого состоит из связанных остатков  $(1 \rightarrow 4) - \beta$ , D – ксилопиранозы и по C-3 атому ксилозы присоединяется  $\alpha$  – D – глюкоза.

Вещество 3 является гликопротеином 1 типа, полисахарид с основной цепью из связанных остатков  $(1 \rightarrow 3) - \alpha$ , D – глюкopiранозы с  $(1 \rightarrow 3)$

$-\beta$ , D – ксилопиранозой,  $(1 \rightarrow 4) - \alpha$ , L – рамнопиранозой и  $(1 \rightarrow 3) - \beta$ , D – глюкозаминпиранозой.

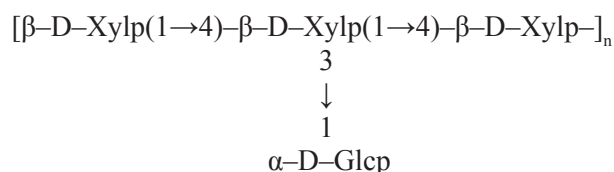
Вещество 4 отнесен также к гликопротеинам 1 типа и имеет углеводную часть – разветвленный полисахарид с основной цепью из связанных остатков  $(1 \rightarrow 4) - \beta$ , D – ксилопиранозы и  $(1 \rightarrow 4) - \alpha$ , D – глюкopiранозы, по C-3 атому ксилозы присоединяется  $\alpha$  – D – 2, 6 дезоксисахар.

Вещества 3 и 4 различаются по аминокислотному составу. Пептидная часть вещества 3 представлена следующими аминокислотами: аланин, аргинин, гистидин и пролин. В веществе 4 – глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота и аланин.

Предполагаемые структуры выделенных веществ:

$[\beta\text{-D-Xylp}(1 \rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Xylp}(1 \rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-2, 6-дезоксисахар}(1 \rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-глюкоурононая кислота}]_n$

Вещество 1

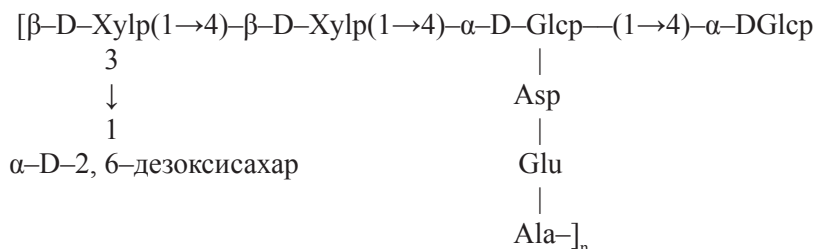




## Вещество 2



## Вещество 3



## Вещество 4

Изучение химического состава шрота из растения рода *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая) продолжается.

## Заключение

Впервые изучен углеводно-белковый состав шрота растения рода *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая).

Разработана методика выделения углеводно-белкового комплекса из шрота *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая).

С использованием адсорбционно-распределительной хроматографии и классических методов анализа (кислотного, щелочного, ферментативного гидролиз) выделены следующие вещества из шрота надземной части растения рода *Climacoptera obtusifolia* (Климакоптера туполистая): олигосахарид, полисахарид и 2 гликопротеина.

## Литература

- 1 Абылаева Б.А., Рахимов Д.А., Ахмедова З.Р., Давранов К.Д. Углеводный состав препаратов, грибного происхождения // Химия природ. соедин. – 1997. – №3. – С.352-357.
- 2 Моисеева Г.Ф., Беликов В.Г. Иммуностимулирующие полисахариды высших растений // Фармация. – 1992. – №3. – С.79-84.
- 3 Яковлев Г.П., Пыченкова П.А. Полисахариды *Solidago virgaurea* // Химия природ. соедин. – 1981. – №6. – С.790-791.
- 4 Санавова М.Х., Рахимов Д.А. Изучение полисахаридов *Morus* и их биологической активности // Хим. природ. соедин. – 1997. – №6. – С. 789-791.
- 5 Рахимов А.А., Кариев А.У., Умаров А.А. Химический состав полисахаридов и их регуляторные свойства // Химия природ. соедин. – 1996. – №6. – С.941-943.
- 6 Рахимов Д.А., Маликова М.Х., Вахабов А.А. Выделение и антикоагулянтная активность полисахаридов *Lagochilis u Sunachmatirus* // Химия природ. соедин. – 1997. – №5. – С.690-692.
- 7 Флора Казахстана. – А.: АН Каз ССР, 1958. – Т.3. – С. 179-180, 274-281.
- 8 Инновационный патент №25029 РК. Способ получения антидиабетического средства / Сейтимова Г.А., Бурашева Г.Ш., Ескалиева Б.К., Абилов Ж.А., Haji Akber Aisa, опубл. 15.12.2011, Бюл.№12.
- 9 Государственная фармакопея Республики Казахстан. – Астана: Министерство здравоохранения Республики Казахстан, 2008. – Т. 1. – С. 592.
- 10 Ескалиева Б.К. Химическое исследование некоторых видов растения рода Климакоптера (*Climacoptera*): автореф. ... канд. хим. наук: 02.00.10. – Алматы, 2007. – 18 с.

## References

- 1 Abylaeva B.A., Rakhimov D.A., Akhmedova Z.R., Davranov K.D. Uglevodnyy sostav preparatov, gribnogo proiskhozhdeniya // Khimiya prirod. soedin. – 1997. – №3. – S.352-357.

- 2 Moiseeva G.F., Belikov V.G. Immunostimuliruyushchie polisakharidy vysshikh pasteniy // Farmatsiya. – 1992. – №3. – S.79-84.
- 3 Yakovlev G.P., Pychenkova P.A. Polisakharidy *Solidago virgaurea* // Khimiya prirod. soedin. – 1981. – №6. – S.790-791.
- 4 Sanavova M.Kh., Rakhimov D.A. Izucheniya polisakharidov *Morus* i ikh biologicheskoy aktivnosti // Khimiya prirod. soedin. – 1997. – №6. – S.789-791.
- 5 Rakhimov A.A., Kariev A.U., Umarov A.A. Khimicheskii sostav polisakharidov i ikh regulatorynye svoistva // Khimiya prirod. soedin. – 1996. – №6. – S.941-943.
- 6 Rakhimov D.A., Malikova M.Kh., Vakhobov A.A. Vydelenie i antikoagulyantnaya aktivnost' polisakharidov *Lagochilis u Sunachmatirus* // Khimiya prirod. soedin. – 1997. – №5. – S.690-692.
- 7 Flora Kazakhstana. – A.: AN Kaz SSR, 1958. – T.3. – S.179-180, 274-281.
- 8 Innovatsionnyy patent №25029 RK. Sposob polucheniya antidiabeticheskogo sredstva / Seitimova G.A., Burasheva G.Sh., Eskalieva B.K., Abilov Zh.A., Haji Akber Aisa, opubl. 15.12.2011, Byul.№12.
- 9 Gosudarstvennaya farmakopeya Respubliki Kazakhstan. – Astana: Ministerstvo zdravookhraneniya Respubliki Kazakhstan, 2008. – T.1. – C.592.
- 10 Eskalieva B.K. Khimicheskoe issledovanie nekotorykh vidov rasteniya roda *Klimakoptera* (*Climacoptera*): avtoref. ... kand. khim. nauk: 02.00.10. – Almaty, 2007. – 18 s.