

УДК 582.949.2:577.114:546.03

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПОЛИСАХАРИДОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВИДОВ РОДА ЧЕРНОГОЛОВКА

© А.А. Шамилов<sup>1\*</sup>, В.Н. Бубенчикова<sup>2</sup>, Н.Н. Степанова<sup>1</sup>, Е.Р. Гарсия<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолгГМУ, Калинина пр., 11, Пятигорск, 357532 (Россия), e-mail: shamilovxii@yandex.ru

<sup>2</sup> Курский государственный медицинский университет, ул. Карла Маркса, 3, Курск, 305041 (Россия)

Природные высокомолекулярные соединения имеют как самостоятельное значение в медицинской практике, так и в составе комплексных препаратов в качестве сопутствующих соединений, а также возможных транспортных молекул для основных действующих веществ. К растительным полимерам относятся полисахариды, физико-химические параметры которых важны при разработке фармацевтических субстанций растительного происхождения. Целью данной работы было установление физико-химических параметров полисахаридов, выделенных из травы трех видов рода *Prunella*. Для этого решались следующие задачи: рассчитать среднюю молекулярную массу водорастворимых полисахаридов (ВРПС) и пектиновых веществ (ПВ) вискозиметрическим методом, определить изоэлектрическую точку, коэффициент распределения, поверхностную активность. Результаты. Наибольшую молярную массу имеют ВРПС и ПВ черноголовки разрезной:  $M_{\text{ВРПС}}=30490$  г/моль;  $M_{\text{ПВ}}=25610$  г/моль. Макромолекулы ВРПС и ПВ находятся в электронейтральном состоянии при значении рН среды меньше 7. Молекулы не влияют на поверхностное натяжение на границе двух фаз, но при этом обладают проникающей способностью. Выводы. Полисахариды из травы трех видов черноголовки обладают высокой молекулярной массой больше 10 тыс. г/моль и могут быть предложены в качестве вспомогательных веществ для коррекции реологических свойств мягкой или жидкой лекарственной формы, а также в качестве транспортных молекул-носителей для действующих веществ. В кислой среде макромолекулы полимеров находятся в электронейтральном состоянии, при этом снижается их растворимость и способность к набуханию. При этом полимеры обладают высокой проникающей способностью через клеточную мембрану. Эти свойства обуславливают транспорт и биодоступность как самих полисахаридов, так и основных действующих веществ.

**Ключевые слова:** черноголовка обыкновенная, черноголовка крупноцветковая, черноголовка разрезная, полисахариды, вязкость, молекулярная масса.

### Введение

Шамилов Арнольд Алексеевич – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, e-mail: shamilovxii@yandex.ru, ORCID 0000-0002-6730-9518

Бубенчикова Валентина Николаевна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники, e-mail: bubenjikova.ksmu@yandex.ru, ORCID 0000-0001-9682-0684

Степанова Наталья Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры неорганической, физической и коллоидной химии, e-mail: stepanova131265@gmail.com

Гарсия Екатерина Робертовна – кандидат фармацевтических наук, преподаватель кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, e-mail: x-pharm@mail.ru, ORCID 0000-0003-3217-0680

Научный интерес к природным полимерам, таким как полисахариды, обусловлен их нетоксичностью, доступностью, уникальными физико-химическими и фармакологическими свойствами. При этом исследования направлены на выделение полисахаридов из различных природных источников, установление их структуры и параметров с помощью современных физико-химических методов, определения фармакологических свойств и способа применения [1]. Растительные полисахариды обладают радиопротекторными, регенеративными, иммуномодулирующими, гепатопротекторными свойствами [2]. Известны сорбционные

\* Автор, с которым следует вести переписку.

свойства пектиновых веществ, что позволяет предлагать их в качестве носителей действующих веществ и растительных сорбентов наряду с синтетическими аналогами, обладающими как физической, так и химической сорбцией [2–5]. При этом благодаря наличию собственных фармакологических свойств возможна разработка комплексных препаратов [5, 6]. Виды рода *Prunella* L. – черноголовка (семейство *Lamiaceae* – Яснотковые) произрастают на территории Российской Федерации на Северном Кавказе, европейской части России, Западной Сибири [6, 7]. Цветки черноголовки обыкновенной являются официальным лекарственным растительным сырьем (ЛРС) и входят в Европейскую фармакопею, Китайскую фармакопею [7, 8]. Произрастающие на Северном Кавказе три вида черноголовки – черноголовка обыкновенная (*Prunella vulgaris*; ЧО), черноголовка крупноцветковая (*Prunella grandiflora*; ЧК), черноголовка разрезная (*Prunella laciniata*; ЧР) накапливают полисахариды, тритерпеноиды, фенолкарбоновые кислоты с мажорным компонентом розмариновой кислотой, флавоноиды. При этом растения обладают рядом фармакологических свойств, таких как ранозаживляющее, гемостатическое, антимикробное, жаропонижающее, тонизирующее, гипогликемическое [7, 8–10]. Ранее опубликованные сведения о количественном содержании и мономерном составе полисахаридов, выделенных из травы черноголовки разрезной и черноголовки обыкновенной, свидетельствуют об актуальности исследования физико-химических свойств наиболее востребованных в медицинской практике фракций полисахаридов – водорастворимых полисахаридов (ВРПС) и пектиновых веществ (ПВ) [12, 13]. Таким образом, цель данной работы – установление физико-химических параметров полисахаридов, выделенных из травы трех видов рода *Prunella*.

### Экспериментальная часть

Траву трех видов черноголовки (черноголовки обыкновенной – *Prunella vulgaris* L.; черноголовки крупноцветковой – *P. grandiflora* L.; черноголовки разрезной – *P. laciniata* L.) собирали в период цветения-начала плодоношения в местах естественного произрастания: черноголовка обыкновенная и черноголовка крупноцветковая – перевал Гумбаши, Карачаевский район, Карачаево-Черкесская Республика (август 2019 г.); черноголовка разрезная – лес Дубровка, окрестности горы Дубровка, Пятигорск, Ставропольский край (август 2020 г.). Фракционное выделение полисахаридов проводили по ранее используемой методике [12, 13]. Полученные фракции ВРПС и ПВ анализировали согласно нижеописанных методик.

*Определение средней молярной массы ВРПС и ПВ вискозиметрическим методом.* Определение средней молекулярной массы ВРПС, выделенных из различных видов черноголовки, проводили вискозиметрическим методом. Использовали капиллярный вискозиметр Оствальда, с помощью которого измеряли время истечения воды и водных растворов полисахаридов различных концентраций ( $C$ ). Для проведения опыта брали одинаковые объемы жидкостей (15 мл), что позволяло, исходя из уравнения Пуазейля-Гагена:

$$Q = \frac{V}{t} = \frac{pr^4 Dp}{8hl}, \quad (1)$$

где  $Q$  - объемная скорость течения, равная отношению объема жидкости  $V$  ко времени  $t$  его протекания по капилляру с радиусом  $r$  и длиной  $l$ ;  $Dp$  - разность давлений на концах капилляра, вызывающая течение жидкости, определить относительную вязкость растворов полисахаридов, зная время их вытекания:

$$h_{\text{омн}} = \frac{h}{h_0} = \frac{t}{t_0}, \quad (2)$$

где  $h$  и  $h_0$  – динамическая вязкость раствора полисахарида и воды, соответственно;  $t$  и  $t_0$  – время их вытекания.

Удельную и приведенную вязкость растворов рассчитывали по уравнениям:

$$h_{\text{уд}} = h_{\text{омн}} - 1 \quad (3)$$

$$h_{\text{пр}} = \frac{h_{\text{уд}}}{C} \quad (4)$$

Для определения средней молярной массы ВРПС использовали уравнение Марка-Хаувинка-Куна, включающее в себя характеристическую вязкость  $[h]$ :

$$[h] = KM^a, \quad (5)$$

где  $K$  и  $a$  – константы, постоянные для данного полимергомологического ряда и растворителя (константа  $a$  учитывает гибкость макромолекул); из литературных данных  $K=1.1 \cdot 10^{-5}$ ,  $a=1.2$  [14–18].

Величину характеристической вязкости  $[h]$  определяли графическим способом путем построения зависимости приведенной вязкости растворов полисахаридов от их концентрации как отрезок, отсекаемый этой линией от оси ординат.

*Определение изоэлектрической точки (ИЭТ) ВРПС и ПВ вискозиметрическим методом.* Определение ИЭТ проводили вискозиметрическим методом с использованием капиллярного вискозиметра Оствальда. Готовили по 10 мл ацетатных буферных растворов с различным значением pH, в которые помещали по 5 мл 1% растворов исследуемых веществ. Для определения относительной вязкости измеряли время истечения из капилляра приготовленных растворов ( $t$ ) и такого же объема дистиллированной воды ( $t_0$ ). Относительную вязкость рассчитывали по уравнению 2.

Для определения объемов уксусной кислоты ( $C=0.2$  моль/л) и ацетата натрия ( $C=0.2$  моль/л), необходимых для приготовления буферных растворов с требуемым значением pH, использовали уравнение:

$$pH_{\text{буф.р-ра}} = pK + \lg \frac{V_{CH_3COONa} \cdot C_{CH_3COONa}}{V_{CH_3COOH} \cdot C_{CH_3COOH}} \quad (6)$$

*Исследование поверхностной активности ВРПС и ПВ.* Для изучения поверхностно-активных свойств ВРПС и ПВ, выделенных из трех видов черноголовки, использовали сталагмометрический метод (метод счета капель) и метод Ребиндера (метод наибольшего давления пузырька воздуха при проскакивании его в жидкость). Давление ( $h$ ) измеряли в мм ст.ж.

Расчет поверхностного натяжения проводили по уравнениям:

$$s = s_0 \times \frac{n_0 \cdot r}{n \cdot r_0}, \quad (7)$$

где  $s$  и  $s_0$  – поверхностное натяжение раствора полисахарида и воды соответственно; Н/м ( $\sigma_{H_2O}=72.28 \cdot 10^{-3}$  Н/м при 23 °С);  $n$  и  $n_0$  – число капель раствора полисахарида и воды соответственно при вытекании из капилляра сталагмометра;  $r$  и  $r_0$  – плотность раствора полисахарида и воды соответственно, г/см<sup>3</sup>.

$$s = s_0 \times \frac{h \cdot r}{h_0 \cdot r_0}, \quad (8)$$

где  $s$  и  $s_0$  – поверхностное натяжение раствора полисахарида и воды соответственно; Н/м ( $\sigma_{H_2O}=72.28 \cdot 10^{-3}$  Н/м при 23 °С);  $h$  и  $h_0$  – высота столба раствора полисахарида и воды соответственно при продавливании пузырька воздуха в приборе Ребиндера;  $r$  и  $r_0$  – плотность раствора полисахарида и воды соответственно, г/см<sup>3</sup>.

*Определение коэффициентов распределения ВРПС и ПВ между двумя жидкими фазами.* На следующем этапе нашего исследования с целью описания транспорта веществ через клеточные мембраны проводилось определение коэффициентов распределения ВРПС и ПВ между двумя жидкими фазами с использованием кондуктометрического метода.

Была приготовлена серия водных растворов ВРПС и ПВ различных концентраций ( $C_0$ ). Растворы готовились методом разбавления вдвое. Объем каждого раствора составлял 30 мл. К каждому раствору добавляли по 30 мл органического растворителя (этилацетата) в качестве экстрагента. Экстрагирование проводили в течение 40 мин.

С помощью кондуктометра «Эксперт-002» измеряли сопротивление ( $R$ ) исходных водных растворов исследуемых веществ и водных растворов, оставшихся после проведения экстракции.

По уравнению

$$\kappa = \frac{K_{\text{д}}}{R} \quad (9)$$

рассчитали удельную электрическую проводимость растворов ( $\kappa$ ), определив предварительно константу ячейки ( $K_{\text{д}}$ ) путем измерения сопротивления стандартного 0.02 М раствора хлорида калия с известной удельной электрической проводимостью при температуре опыта  $T=21$  °С:

$$R_{\text{KCl}} = 371.3 \text{ Ом}; k_{\text{KCl}} = 0.002553 \text{ Ом}^{-1}\text{см}^{-1} = 0.2553 \text{ Ом}^{-1}\text{м}^{-1}$$

$$K_{\text{д}} = k_{\text{KCl}} \cdot R_{\text{KCl}} = 0.2553 \text{ Ом}^{-1}\text{м}^{-1} \cdot 371.3 \text{ Ом} = 94.793 \text{ м}^{-1}$$

$$k_i = K_{\text{д}}/R_i [\text{Ом}^{-1}\text{м}^{-1}] = K_{\text{д}}/R_i [\text{См/м}] = 1000 \cdot K_{\text{д}}/R_i [\text{мСм/м}]$$

Используя прямо пропорциональную зависимость между концентрацией раствора слабого электролита и его удельной электропроводностью, определили концентрацию исследуемых веществ в водных растворах после проведения экстракции ( $C_1$ ). Концентрацию веществ в органической фазе нашли по разнице:  $C_2 = C_0 - C_1$ .

Коэффициенты распределения ВРПС и ПВ между этилацетатом и водой находили по закону распределения Нернста:

$$K = \frac{C_1}{C_2^n}, \quad (10)$$

где  $C_1$  - равновесная концентрация извлекаемого вещества в водной фазе;  $C_2$  - его концентрация в органической фазе;  $n$  - степень ассоциации (показатель при данной температуре, обусловленный свойствами всех трех компонентов системы).

Для определения степени ассоциации и коэффициента распределения уравнение Нернста приводили в линейную форму путем логарифмирования. Отрезок, отсекаемый полученной прямой на оси ординат, равен  $\lg K$ , а тангенс ее наклона равен  $n$ .

Определение степени ассоциации графическим методом позволило рассчитать коэффициенты распределения исследуемых ВРПС и ПВ по уравнению Нернста и определить степень извлечения веществ в органическую фазу по уравнению:

$$a = 1 - \frac{KV_1}{KV_1 + V_2} = \frac{1}{K + 1}, \quad (11)$$

где  $V_1$  и  $V_2$  - объем исходного раствора исследуемого вещества и объем экстрагента соответственно ( $V_1 = V_2 = 30$  мл).

### Обсуждение результатов

Полисахариды относятся к высокомолекулярным веществам (ВМВ), многие свойства которых определяются их молекулярной массой. В частности, от молекулярной массы и структуры макромолекул зависит способность ВМВ к набуханию и растворению.

Экспериментальные и расчетные данные представлены в таблице 1.

Полученные результаты свидетельствуют, что наибольшую среднюю молекулярную массу имеют ВРПС, выделенные из травы черноголовки разрезной.

Аналогичные эксперименты были проведены для определения молярной массы пектиновых веществ, выделенных из различных видов черноголовки. Экспериментальные и расчетные данные представлены в таблице 2.

Полученные результаты свидетельствуют, что наибольшую среднюю молекулярную массу имеют ПВ, также выделенные из травы черноголовки разрезной.

Выделенные из различных видов черноголовки ВРПС и ПВ представляют собой полиэлектролиты, так как их водные растворы проводят электрический ток. Применяют полиэлектролиты в качестве ионооб-

менников ПАВ, структурообразователей, загустителей и др. При наличии в составе макромолекул как кислотных, так и основных групп, ВМВ являются полиамфолитами, для которых при определенном значении рН среды, называемым изоэлектрической точкой (ИЭТ), характерно наличие изоэлектрического состояния (ИЭС). В изоэлектрическом состоянии количество ионизированных основных и кислотных групп одинаково, макромолекулы не имеют заряда и принимают глобулярную конформацию. При этом свойства растворов полиамфолитов резко меняются: уменьшается вязкость, снижается набухание и растворимость. Поэтому ИЭТ является одной из важнейших характеристик полиамфолитов, которую мы определяли в последующих экспериментах.

В макромолекулах исследуемых ВРПС и ПВ содержится больше способных к диссоциации кислотных групп, чем основных – они являются более сильными кислотами, чем основаниями, поэтому можно предположить, что их изоэлектрическая точка будет меньше 7.

Результаты экспериментов представлены в таблицах 3, 4.

Таблица 1. Вязкость водных растворов ВРПС, выделенных из видов черноголовки (температура 21 °С)

№	Концентрация С, %	Время истечения t, с	h <sub>отн</sub>	h <sub>уд</sub>	h <sub>пр</sub>	Характеристическая вязкость [η]	Молярная масса М, г/моль
<i>ВРПС черноголовки обыкновенной</i>							
H <sub>2</sub> O	–	26.29	–	–	–	1.71	21200
1	0.25	38.03	1.45	0.45	1.79		
2	0.50	50.34	1.91	0.91	1.83		
3	0.75	63.94	2.43	1.43	1.91		
4	1.00	78.45	2.98	1.98	1.98		
<i>ВРПС черноголовки крупноцветковой</i>							
H <sub>2</sub> O	–	26.29	–	–	–	1.23	16110
1	0.25	34.51	1.31	0.31	1.25		
2	0.5	42.91	1.63	0.63	1.26		
3	0.75	51.73	1.97	0.97	1.29		
4	1.00	60.56	2.30	1.30	1.30		
<i>ВРПС черноголовки разрезной</i>							
H <sub>2</sub> O	–	26.29	–	–	–	2.65	30490
1	0.25	46.59	1.77	0.77	3.09		
2	0.50	69.57	2.65	1.65	3.29		
3	0.75	100.62	3.83	2.83	3.77		
4	1.00	136.15	5.18	4.18	4.18		

Таблица 2. Вязкость водных растворов ПВ, выделенных из видов черноголовки (температура 21 °С)

№	Концентрация С, %	Время истечения t, с	h <sub>отн</sub>	h <sub>уд</sub>	h <sub>пр</sub>	Характеристическая вязкость [η]	Молярная масса М, г/моль
<i>ПВ черноголовки обыкновенной</i>							
H <sub>2</sub> O	–	26.29	–	–	–	1.44	18370
1	0.25	37.41	1.42	0.42	1.69		
2	0.50	47.68	1.81	0.81	1.63		
3	0.75	64.14	2.44	1.44	1.92		
4	1.00	82.18	3.13	2.13	2.13		
<i>ПВ черноголовки крупноцветковой</i>							
H <sub>2</sub> O	–	26.29	–	–	–	1.82	22330
1	0.25	39.37	1.50	0.50	1.99		
2	0.50	53.90	2.05	1.05	2.10		
3	0.75	71.24	2.71	1.71	2.28		
4	1.00	90.44	3.44	2.44	2.44		
<i>ПВ черноголовки разрезной</i>							
H <sub>2</sub> O	–	26.29	–	–	–	2.15	25610
1	0.25	41.06	1.56	0.56	2.25		
2	0.50	55.78	2.12	1.12	2.24		
3	0.75	72.82	2.77	1.77	2.36		
4	1.00	90.69	3.45	2.45	2.45		

Таблица 3. Определение ИЭТ водорастворимых полисахаридов, выделенных из видов черноголовки (температура 21 °С)

№	1	2	3	4	5	6	H <sub>2</sub> O
V <sub>CH<sub>3</sub>COOH</sub> , мл	9.7	9.2	7.8	5.2	2.6	1.0	-
V <sub>CH<sub>3</sub>COONa</sub> , мл	0.3	0.8	2.2	4.8	7.4	9.0	-
pH раствора	3.2	3.7	4.2	4.7	5.2	5.7	-
<i>ВРПС черноголовки обыкновенной</i>							
Время истечения <i>t</i> , с	38.24	39.09	37.95	40.25	39.34	39.61	26.29
Относительная вязкость $\eta_{\text{отн}}$	1.45	1.49	1.44	1.53	1.50	1.51	-
Изоэлектрическая точка (ИЭТ)	4.2						
<i>ВРПС черноголовки крупноцветковой</i>							
Время истечения <i>t</i> , с	37.29	37.47	36.01	38.45	38.57	38.95	26.29
Относительная вязкость $\eta_{\text{отн}}$	1.42	1.43	1.37	1.46	1.47	1.48	-
Изоэлектрическая точка (ИЭТ)	4.2						
<i>ВРПС черноголовки разрезной</i>							
Время истечения <i>t</i> , с	51.02	51.15	49.95	51.80	52.68	51.66	26.29
Относительная вязкость $\eta_{\text{отн}}$	1.94	1.95	1.90	1.97	2.00	1.96	-
Изоэлектрическая точка (ИЭТ)	4.2						

Таблица 4. Определение ИЭТ пектиновых веществ, выделенных из видов черноголовки

№	1	2	3	4	5	6	H <sub>2</sub> O
V <sub>CH<sub>3</sub>COOH</sub> , мл	9.7	9.2	7.8	5.2	2.6	1.0	-
V <sub>CH<sub>3</sub>COONa</sub> , мл	0.3	0.8	2.2	4.8	7.4	9.0	-
pH раствора	3.2	3.7	4.2	4.7	5.2	5.7	-
<i>ПВ черноголовки обыкновенной</i>							
Время истечения <i>t</i> , с	41.12	39.18	41.66	40.71	42.02	39.97	26.29
Относительная вязкость $\eta_{\text{отн}}$	1.56	1.49	1.58	1.55	1.60	1.52	-
Изоэлектрическая точка (ИЭТ)	3.7						
<i>ПВ черноголовки крупноцветковой</i>							
Время истечения <i>t</i> , с	45.11	41.26	43.53	42.46	44.23	41.60	26.29
Относительная вязкость $\eta_{\text{отн}}$	1.72	1.57	1.66	1.62	1.68	1.58	-
Изоэлектрическая точка (ИЭТ)	3.7						
<i>ПВ черноголовки разрезной</i>							
Время истечения <i>t</i> , с	45.95	47.25	45.69	46.52	46.36	49.61	26.29
Относительная вязкость $\eta_{\text{отн}}$	1.75	1.80	1.74	1.77	1.76	1.89	-
Изоэлектрическая точка (ИЭТ)	4.2						

Результаты подтверждают, что полисахаридные комплексы, выделенные из травы видов черноголовки, находятся в электронейтральном состоянии при pH меньше 7, причем пектиновые вещества за счет большего содержания галактуроновой кислоты и, соответственно, свободных карбоксильных групп, характеризуются ИЭТ при более низком значении pH.

Известно, что многие природные полисахариды и пектиновые вещества обладают поверхностной активностью, которая во многом определяет их области применения.

Результаты экспериментов показали, что выделенные из черноголовки ВРПС и ПВ не влияют на поверхностное натяжение растворителя, т.е. являются поверхностно неактивными веществами (ПНАВ) (колебания в экспериментальных данных лежат в пределах погрешности измерения). Количество капель при истечении растворов ВРПС и ПВ из сталагмометра, а также высота столба жидкости при продавливании пузырька воздуха в приборе Ребиндера не отличались от растворителя – воды.

Результаты расчета коэффициентов распределения и степени ассоциации полисахаридов и пектиновых веществ, выделенных из различных видов черноголовки, представлены в таблицах 5, 6.

Таким образом, наилучшей проникающей способностью обладают ВРПС из травы черноголовки разрезной (коэффициент распределения составил 0.95, степень извлечения 51.7%) и ПВ из травы черноголовки обыкновенной (коэффициент распределения составил 1.26, степень извлечения – 44.5%).

Таблица 5. Экспериментальные данные и результаты определения коэффициента распределения и степени извлечения ВРПС, выделенных из растений рода черноголовка

№	С <sub>0</sub> , %	К <sub>0</sub> , мСм/м	К <sub>1</sub> , мСм/м	С <sub>1</sub>	С <sub>2</sub>	lg С <sub>1</sub>	lg С <sub>2</sub>	К <sub>граф</sub>	n	К	α, %
<i>ВРПС черноголовки обыкновенной</i>											
1	0.03	4.72	3.99	0.02	0.01	-1.58	-2.32	2.79	0.86	2.64	26.3
2	0.06	8.07	6.70	0.05	0.01	-1.29	-1.98			2.62	
3	0.13	13.86	11.90	0.11	0.02	-0.97	-1.75			3.48	
4	0.25	26.43	20.91	0.20	0.05	-0.70	-1.28			2.53	
									К <sub>сред</sub> =	2.82	
<i>ВРПС черноголовки крупноцветковой</i>											
1	0.03	4.73	4.15	0.02	0.01	-1.56	-2.41	2.95	0.84	2.82	25.4
2	0.06	8.19	7.12	0.05	0.01	-1.27	-2.09			3.01	
3	0.13	15.25	13.08	0.12	0.01	-0.97	-1.75			3.11	
4	0.25	28.22	23.30	0.21	0.04	-0.69	-1.36			2.83	
									К <sub>сред</sub> =	2.94	
<i>ВРПС черноголовки разрезной</i>											
1	0.03	4.01	3.79	0.02	0.01	-1.53	-2.76	0.92	0.5658	1.09	51.7
2	0.06	7.13	5.86	0.05	0.01	-1.29	-1.96			0.66	
3	0.13	12.51	9.98	0.10	0.03	-1.00	-1.60			0.80	
4	0.25	20.77	17.30	0.21	0.04	-0.68	-1.38			1.25	
									К <sub>сред</sub> =	0.95	

Таблица 6. Экспериментальные данные и результаты определения коэффициента распределения и степени извлечения ПВ, выделенных из растений рода черноголовка

№	С <sub>0</sub> , %	К <sub>0</sub> , мСм/м	К <sub>1</sub> , мСм/м	С <sub>1</sub>	С <sub>2</sub>	lg С <sub>1</sub>	lg С <sub>2</sub>	К <sub>граф</sub>	n	К	α, %
<i>ПВ черноголовки обыкновенной</i>											
1	0.03	8.06	7.35	0.02	0.01	-1.55	-2.56	1.24	0.67	1.42	44.5
2	0.06	14.55	11.71	0.05	0.01	-1.30	-1.91			0.94	
3	0.13	25.54	20.30	0.10	0.03	-1.00	-1.59			1.14	
4	0.25	48.07	38.83	0.20	0.05	-0.70	-1.32			1.52	
									К <sub>сред</sub> =	1.26	
<i>ПВ черноголовки крупноцветковой</i>											
1	0.03	9.09	7.60	0.02	0.01	-1.58	-2.29	4.21	0.96	4.25	19.2
2	0.06	16.74	13.90	0.05	0.01	-1.29	-1.97			4.17	
3	0.13	30.40	25.20	0.10	0.03	-0.99	-1.67			4.23	
4	0.25	55.37	45.66	0.21	0.04	-0.69	-1.36			4.22	
									К <sub>сред</sub> =	4.22	
<i>ПВ черноголовки разрезной</i>											
1	0.03	11.28	8.99	0.02	0.01	-1.60	-2.20	8.19	1.15	8.63	10.8
2	0.06	13.78	10.82	0.05	0.01	-1.31	-1.87			7.12	
3	0.13	24.89	20.79	0.10	0.03	-0.98	-1.69			9.22	
4	0.25	45.95	38.22	0.21	0.04	-0.68	-1.38			8.05	
									К <sub>сред</sub> =	8.25	

### Выводы

Определена средняя молярная масса водорастворимых полисахаридов и пектиновых веществ, выделенных из трех видов черноголовки, с применением вискозиметрического метода. Наибольшую молярную массу и, следовательно, самый большой размер молекул и меньшую растворимость имеют ВРПС и ПВ черноголовки разрезной:  $M_{ВРПС} = 30490$  г/моль;  $M_{ПВ} = 25610$  г/моль.

Установлено, что исследуемые ВРПС и ПВ являются полиэлектролитами. Пектиновые вещества представляют собой полиамфолиты, для которых определена их изоэлектрическая точка, значение которой меньше 7. Это говорит о преобладании в макромолекулах пектиновых веществ кислотных групп.

Установлено отсутствие поверхностной активности выделенных из черноголовки ВРПС и ПВ, следовательно, они являются поверхностно неактивными веществами и не могут быть использованы в качестве стабилизаторов.

Определены коэффициенты распределения ВРПС и ПВ между двумя жидкими фазами (водной и органической) с применением кондуктометрического метода. Коэффициенты распределения, рассчитанные по уравнению закона распределения Нернста, сопоставимы с найденным графически, что говорит о достоверности полученных результатов. Процесс перехода ВРПС в органический слой в изобарно-изотермических условиях протекает самопроизвольно. Наибольшая эффективность этого перехода наблюдается у ВРПС, выделенных из черноголовки разрезной, и ПВ, выделенных из черноголовки обыкновенной. Для этих веществ выявлены наименьшая величина коэффициента распределения и наибольшая степень перехода в неполярную (органическую) фазу:

для ВРПС черноголовки разрезной  $K \approx 0.95$ ,  $\alpha = 51.7\%$ ;

для ПВ черноголовки обыкновенной  $K \approx 1.26$ ,  $\alpha = 44.5\%$ .

Для этих же веществ степень ассоциации близка к 0,5, что позволяет предположить образование в этилацетате ассоциатов макромолекул в виде их димеров.

Рассчитанные физико-химические характеристики полисахаридных комплексов являются частью комплексного исследования группы полисахаридов, в том числе как потенциальных природных сорбентов [20–23], и могут быть использованы при разработке лекарственной формы комплексных препаратов.

### Список литературы

1. Оленников Д.Н., Кащенко Н.И. Полисахариды. Современное состояние изученности: экспериментально-наукотометрическое исследование // Химия растительного сырья. 2014. №1. С. 5–26. DOI: 10.14258/jcrpm.1401005
2. Генералов Е.А. Физико-химические подходы к анализу природных полисахаридов // Auditorium. 2015. №4(8). С. 38–54.
3. Аджихметова С.Л., Мыкоц Л.П., Червонная Н.М., Харченко И.И., Туховская Н.А., Оганесян Э.Т. Изучение реологических и сорбционных свойств пектинсодержащих растворов из листьев рябины рябинолистного // Фармация и фармакология. 2017. Т. 5. №5. С. 442–456. DOI: 10.29296/25419218-2018-08-06.
4. Селина И.И., Пеливанова С.Л., Андреева О.А., Лигай Л.В., Мыкоц Л.П., Оганесян Э.Т. Физико-химические характеристики пектинов и водорастворимых полисахаридов крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* L. Mill.), листьев шелковицы черной (*Morus nigra* L.) и шелковицы белой (*Morus alba* L.) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013. Т. 11. №10. С. 20–25.
5. Халиков Д.Х., Мирзоева Р.С., Бободжонова Г.Н., Горшкова Р.М., Халикова С., Авлоев Х.Х. О сорбционной активности пектиновых полисахаридов по отношению к ионам металлов // Доклады Академии наук Республики Таджикистан. 2017. Т. 60. №7-8. С. 333–341.
6. Хвостов М.В., Толстикова Т.Г., Борисов С.А., Душкин А.В. Применение природных полисахаридов в фармацевтике // Биоорганическая химия. 2019. Т. 45. №6. С. 563–575. DOI: 10.1134/S0132342319060241.
7. Шамилов А.А. Растения рода *Prunella*: химический состав, виды фармакологического действия // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2017. №4. С. 152–160.
8. European Pharmacopoeia Online [Электронный ресурс]. URL: <https://pheur.edqm.eu/home>.
9. Cheng L., Wang F., Cao Y., Cai G., Wei Q., Shi S., Guo Y. Screening of potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitory and antioxidant polyphenols in *Prunella vulgaris* L. by bioreaction-HPLC-quadrupole-time-of-flight-MS/MS and *in silico* analysis // J. Sep. Sci. 2022. Vol. 45(18). Pp. 3393–3403. DOI: 10.1002/jssc.202200374.
10. Akkol E.K., Renda G., Ilhan M., Bektaş N.Y. Wound healing acceleration and anti-inflammatory potential of *Prunella vulgaris* L.: From conventional use to preclinical scientific verification // J. Ethnopharmacol. 2022. Vol. 295. 115411. DOI: 10.1016/j.jep.2022.115411.
11. Pan J., Wang H., Chen Y. *Prunella vulgaris* L. – A Review of its Ethnopharmacology, Phytochemistry, Quality Control and Pharmacological Effects // Front Pharmacol. 2022. Vol. 13. 903171. DOI: 10.3389/fphar.2022.903171.
12. Шамилов А.А. Полисахаридный состав травы черноголовки разрезной (*Prunella laciniata* L.), произрастающей на Северном Кавказе // Современные проблемы науки и образования. 2015. №2-2. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=22809>.
13. Шамилов А.А. Анализ полисахаридного, аминокислотного и элементного состава травы черноголовки обыкновенной (*Prunella vulgaris* L.), произрастающей на Северном Кавказе // Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2018. №3. С. 271–277.
14. Цветков В.Н., Эскин В.Е., Френкель С.Я. Структура макромолекул в растворах. М., 1964. 720 с.
15. Червонная Н.М., Харченко И.И., Аджихметова С.Л., Мыкоц Л.П., Андреева О.А., Оганесян Э.Т. Определение некоторых физико-химических свойств пектиновых веществ из шрота соцветий бархатцев распростертых (*Tagetes patula* L.) // Фармация и фармакология. 2017. Т. 5. №3. С. 267–282. DOI: 10.19163/2307-9266-2017-5-3-267-282.
16. Жилина О.М., Мыкоц Л.П., Степанова Н.Н. Некоторые физико-химические свойства пектиновых веществ, полученных из вики мышиной (*Vicia cracca* L.) // Здоровье и образование в XXI веке. 2018. Т. 20. №12. С. 204–209.

17. Аджаихметова С.Л., Мыкоц Л.П., Степанова Н.Н., Червонная Н.М. Изучение реологических свойств растворов пектиновых веществ, полученных из растительного сырья // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». 2020. Т. 22. №6. С. 88–92. DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-6-88-92.
18. Гарсия Е.Р., Мыкоц Л.П., Лигай Л.В., Шамилов А.А., Коновалов Д.А. Качественный состав и некоторые физико-химические показатели полисахаридных фракций из травы татарника колючего // Химия растительного сырья. 2021. №4. С. 65–73. DOI: 10.14258/jcprtm.2021049074.
19. Куличенко Е.О., Мыкоц Л.Р., Туховская Н.А., Андреева О.А., Оганесян Э.Т. Распределение пектиносодержащих веществ, полученных из космеи дваждыперистой, между двумя жидкими фазами // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. 2020. №3 (29). С. 27–35. DOI: 10.34907/JPQAI.2020.96.60.002.
20. Бжихатлова М.А., Мыкоц Л.П., Туховская Н.А., Андреева О.А. Исследование сорбционной способности природных сорбентов, выделенных из капсулы укореняющегося // Химия растительного сырья. 2021. №1. С. 71–78. DOI: 10.14258/jcprtm.2021016618.
21. Аджаихметова С.Л., Мыкоц Л.П., Червонная Н.М., Харченко И.И., Туховская Н.А., Оганесян Э.Т. Изучение процесса адсорбции пектиновых веществ листьев крыжовника отклоненного на границе двух фаз // Фармация. 2018. Т. 67. №8. С. 37–43. DOI: 10.29296/25419218-2018-08-06.
22. Мыкоц Л.П., Аджаихметова С.Л., Червонная Н.М., Туховская Н.А., Степанова Н.Н., Оганесян Э.Т. Особенности сорбции ионов свинца (II) пектиновыми веществами, полученными из растительного сырья // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. 2021. №3 (33). С. 17–24. DOI: 10.34907/JPQAI.2021.90.92.003.
23. Шамилов А.А., Бубенчикова В.Н., Гарсия Е.Р. Сорбционная способность пектиновых веществ некоторых растений флоры Северного Кавказа // Фармацевтическое образование СамГМУ: история, современность, перспективы. Самара, 2021. С. 521–525.

Поступила в редакцию 26 ноября 2022 г.

После переработки 21 февраля 2023 г.

Принята к публикации 17 мая 2023 г.

**Для цитирования:** Шамилов А.А., Бубенчикова В.Н., Степанова Н.Н., Гарсия Е.Р. Сравнительная характеристика физико-химических свойств полисахаридов, выделенных из видов рода черноголовка // Химия растительного сырья. 2023. №4. С. 89–98. DOI: 10.14258/jcprtm.20230412174.

Shamilov A.A.<sup>1\*</sup>, Bubenchikova V.N.<sup>2</sup>, Stepanova N.N.<sup>1</sup>, Garsiya E.R.<sup>1</sup> COMPARATIVE STUDY OF PHYSIC-CHEMICAL PROPERTIES OF POLYSACCHARIDES SELECTED FROM *PRUNELLA* SPP.

<sup>1</sup> Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute (PMPI), Branch of Volgograd State Medical University, av. Kalinina, 11, Pyatigorsk, 357532 (Russia), e-mail: shamilovxii@yandex.ru

<sup>2</sup> Kursk State Medical University, st. K. Marxa, 3, Kursk, 305041 (Russia)

Natural high molecular weight compounds are used in medicine separately and in complex drugs as concomitant substance and as transport substances for the main compounds. Polysaccharides are plant polymers and its physico-chemical properties are useful in the development of pharmaceutical substances of plant origin. The aim of this study is investigation of physico-chemical properties of polysaccharides selected from *Prunella* spp. herb. For this aim, we solved the following tasks: estimate medium molecular weight of water-soluble polysaccharides (WSPS) and pectinic substances (PS) by viscosimeter, isoelectric point, distribution coefficient, superficial activity. Results. WSPS and PS from *P. laciniata* herb has the largest molecular weight (30493 g/mol and 25607 g/mol respectively). Macromolecules of WSPS and PS are electroneutral in the solution with pH<7. The molecules do not affect the surface tension at the boundary of the two phases, but at the same time they have a penetrating ability. Conclusions. Polysaccharides from *Prunella* spp. Have a high molecular weight more 10 k g/mol and this property may cause the elasticity of the dosage form. Macromolecules are electroneutral in the acidic environment and insoluble in water solution and have small ability to swell. Polymers have high penetrating ability through the cell membrane. These properties determine transport and bioavailability of polysaccharides and main compounds.

**Keywords:** *Prunella vulgaris*, *Prunella grandiflora*, *Prunella laciniata*, polysaccharides, viscosity, molecular weight.

\* Corresponding author.

## References

1. Olennikov D.N., Kashchenko N.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2014, no. 1, pp. 5–26. DOI: 10.14258/jcprm.1401005. (in Russ.).
2. Generalov Ye.A. *Auditorium*, 2015, no. 4(8), pp. 38–54. (in Russ.).
3. Adzhiakhmetova S.L., Mykots L.P., Chervonnaya N.M., Kharchenko I.I., Tukhovskaya N.A., Oganessian E.T. *Farmatsiya i farmakologiya*, 2017, vol. 5, no. 5, pp. 442–456. DOI: 10.29296/25419218-2018-08-06. (in Russ.).
4. Selina I.I., Pelivanova S.L., Andreyeva O.A., Ligay L.V., Mykots L.P., Oganessian E.T. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2013, vol. 11, no. 10, pp. 20–25. (in Russ.).
5. Khalikov D.Kh., Mirzoyeva R.S., Bobodzhonova G.N., Gorshkova R.M., Khalikova S., Avloyev Kh.Kh. *Doklady Akademii nauk Respubliki Tadjikistan*, 2017, vol. 60, no. 7-8, pp. 333–341. (in Russ.).
6. Khvostov M.V., Tolstikov T.G., Borisov S.A., Dushkin A.V. *Bioorganicheskaya khimiya*, 2019, vol. 45, no. 6, pp. 563–575. DOI: 10.1134/S0132342319060241. (in Russ.).
7. Shamilov A.A. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, 2017, no. 4, pp. 152–160. (in Russ.).
8. *European Pharmacopoeia Online*. URL: <https://pheur.edqm.eu/home>.
9. Cheng L., Wang F., Cao Y., Cai G., Wei Q., Shi S., Guo Y. *J. Sep. Sci.*, 2022, vol. 45(18), pp. 3393–3403. DOI: 10.1002/jssc.202200374.
10. Akkol E.K., Renda G., Ilhan M., Bektaş N.Y. *J. Ethnopharmacol.*, 2022, vol. 295, 115411. DOI: 10.1016/j.jep.2022.115411.
11. Pan J., Wang H., Chen Y. *Front Pharmacol.*, 2022, vol. 13, 903171. DOI: 10.3389/fphar.2022.903171.
12. Shamilov A.A. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*, 2015, no. 2-2. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=22809>. (in Russ.).
13. Shamilov A.A. *Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, 2018, no. 3, pp. 271–277. (in Russ.).
14. Tsvetkov V.N., Eskin V.Ye., Frenkel' S.Ya. *Struktura makromolekul v rastvorakh*. [Structure of macromolecules in solutions]. Moscow, 1964, 720 p. (in Russ.).
15. Chervonnaya N.M., Kharchenko I.I., Adzhiakhmetova S.L., Mykots L.P., Andreyeva O.A., Oganessian E.T. *Farmatsiya i farmakologiya*, 2017, vol. 5, no. 3, pp. 267–282. DOI: 10.19163/2307-9266-2017-5-3-267-282. (in Russ.).
16. Zhilina O.M., Mykots L.P., Stepanova N.N. *Zdorov'ye i obrazovaniye v XXI veke*, 2018, vol. 20, no. 12, pp. 204–209. (in Russ.).
17. Adzhiakhmetova S.L., Mykots L.P., Stepanova N.N., Chervonnaya N.M. *Mediko-farmatsevticheskij zhurnal «Pul's»*, 2020, vol. 22, no. 6, pp. 88–92. DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-6-88-92. (in Russ.).
18. Garsiya Ye.R., Mykots L.P., Ligay L.V., Shamilov A.A., Kononov D.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2021, no. 4, pp. 65–73. DOI: 10.14258/jcprm.2021049074. (in Russ.).
19. Kulichenko Ye.O., Mykots L.R., Tukhovskaya N.A., Andreyeva O.A., Oganessian E.T. *Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennykh sredstv*, 2020, no. 3 (29), pp. 27–35. DOI: 10.34907/JPQAI.2020.96.60.002. (in Russ.).
20. Bzhikhatlova M.A., Mykots L.P., Tukhovskaya N.A., Andreyeva O.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2021, no. 1, pp. 71–78. DOI: 10.14258/jcprm.2021016618. (in Russ.).
21. Adzhiakhmetova S.L., Mykots L.P., Chervonnaya N.M., Kharchenko I.I., Tukhovskaya N.A., Oganessian E.T. *Farmatsiya*, 2018, vol. 67, no. 8, pp. 37–43. DOI: 10.29296/25419218-2018-08-06. (in Russ.).
22. Mykots L.P., Adzhiakhmetova S.L., Chervonnaya N.M., Tukhovskaya N.A., Stepanova N.N., Oganessian E.T. *Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennykh sredstv*, 2021, no. 3 (33), pp. 17–24. DOI: 10.34907/JPQAI.2021.90.92.003. (in Russ.).
23. Shamilov A.A., Bubenchikova V.N., Garsiya Ye.R. *Farmatsevticheskoye obrazovaniye SamGMU: istoriya, sovremennost', perspektivy*. [Pharmaceutical education of SamSMU: history, modernity, prospects]. Samara, 2021, pp. 521–525. (in Russ.).

Received November 26, 2022

Revised February 21, 2023

Accepted May 17, 2023

**For citing:** Shamilov A.A., Bubenchikova V.N., Stepanova N.N., Garsiya E.R. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2023, no. 4, pp. 89–98. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20230412174.