

УДК 581.192.2

## ВЫДЕЛЕНИЕ, ХИМИЧЕСКАЯ И ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КИСЛЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ ФЛОРЫ СИБИРИ, ОБЛАДАЮЩИХ ИММУНОТРОПНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

© *Е.И. Гулина\**, *С.В. Кривощевков*, *Д.А. Исаков*, *М.В. Белоусов*

*Сибирский государственный медицинский университет, Московский тракт, 2, Томск, 634050 (Россия), e-mail: e.gulina1@gmail.com*

Растительные полисахариды обладают широким спектром биологической активности, в том числе проявляют иммуностимулирующий эффект, степень и величина которого зависит как от состава, так и от пространственной структуры макромолекулы. Из корневищ аира болотного (*Acorus calamus* L.), надземной части василька ложнопятнистого (*Centaurea pseudomaculosa* Dobrocz.), травы болиголова пятнистого (*Conium maculatum* L.) и листьев березы повислой (*Betula pendula* Roth.) выделены экстракцией подкисленным водным раствором (pH=3) и охарактеризованы кислые полисахариды (КПС). Для всех образцов определено содержание общих углеводов (>90%), урсоловых кислот (24.56–53.70%) и незначительное количество примесных веществ (белок и нуклеиновые кислоты 0.81–1.02 и 0.016–0.035% соответственно); молекулярно-массовое распределение ( $M_n$ ,  $M_w$ ). Структурные особенности исследованы с помощью физико-химических и инструментальных методов, таких как УФ- и ИК-спектроскопия, реакция с конго красным и сканирующая электронная микроскопия. Полисахариды аира болотного, болиголова пятнистого и березы повислой обладают структурой тройной спирали и объемной ультраструктурой, полисахариды василька ложнопятнистого характеризуется отсутствием тройной спирали и аморфной ультраструктурой.

*Ключевые слова:* кислые полисахариды, иммуностимулирующая активность, структурная характеристика.

### **Введение**

В настоящее время возрастает интерес к изучению группы растительных полисахаридов (РПС) и проявляемой ими иммуностимулирующей активности [1]. Это обусловлено тем, что подавляющее большинство РПС являются биосовместимыми, биоразлагаемыми и относительно нетоксичными соединениями, они не вызывают значимых побочных эффектов, что является существенным преимуществом для применения их в качестве иммуномодуляторов по сравнению с полисахаридами микробного и синтетического происхождения [2–5]. В ходе многочисленных исследований установлено, что РПС способны влиять на работу иммунной системы, не только активируя иммунные клетки (Т, В-лимфоциты, макрофаги и натуральные киллеры), но и воздействуя с системой комплемента. Молекулы РПС способны инициировать иммунный ответ посредством связывания с рецепторами на поверхности макрофагов (Toll-like receptor 4 (TLR4), CD14, complement receptor 3 (CR3), scavenger receptor (SR), mannose receptor (MR), Dectin-1) [3].

Ввиду сложности и гетерогенности химической структуры полисахаридов для ее определения используется комплекс физико-химических методов, позволяющих установить состав и соотношение моносахарид-

---

*Гулина Екатерина Игоревна* – ассистент кафедры фармацевтического анализа, e-mail: e.gulina1@gmail.com  
*Кривощевков Сергей Владимирович* – доцент кафедры фармацевтического анализа, e-mail: ksv\_tsu@mail.ru  
*Исаков Денис Александрович* – аспирант, e-mail: den.isakov.1998@mail.ru  
*Белоусов Михаил Валерьевич* – заведующий кафедрой фармацевтического анализа, e-mail: mvb63@mail.ru

ных остатков, степень полимеризации, точки ветвления и пространственную структуру [2, 5, 6]. Установлено, что каждая из характеристик вносит значительный вклад в формирование активности полисахаридов, в том числе в их иммуномодулирующие свойства [7–9]. Известно, что высокомолекулярные полисахариды (>100 кДа) обладают

---

\* Автор, с которым следует вести переписку.

более выраженной иммуномодулирующей активностью [10]. Наличие моносахаридных остатков глюкозы, галактозы, арабинозы и маннозы также может быть тесно связано с иммуномодулирующей активностью [7, 10]. Также известно о вкладе остатков уроновых кислот в формирование иммуностимулирующей активности [11]. Кроме этого, известно, что иммуностимулирующая активность глюканов тесно связана со структурой тройной спирали [8], главный вклад в формирование которой вносят гликозидные, меж- и внутримолекулярные водородные связи [8, 12]. Для характеристики пространственной структуры применяются различные методы: спектрофотометрия продуктов реакции с конго красным, метод классической молекулярной динамики, атомно-силовая микроскопия, сканирующая электронная микроскопия, спектроскопия кругового дихроизма, рентгеноструктурный анализ и дифференциальная сканирующая калориметрия, среди которых наиболее информативными являются спектрофотометрия с конго красным и сканирующая электронная микроскопия [2, 8].

В ранее проведенных исследованиях [13–16] установлено наличие иммуностимулирующей активности различной степени для полисахаридов ряда растений флоры России, таких как аир болотный (*Acorus calamus* L.), василек ложнопятнистый (*Centaurea pseudomaculosa* Dobroc.), болиголов пятнистый (*Conium maculatum* L.) и береза повислая (*Betula pendula* Roth.). Показано, что полисахариды, выделенные из этих растений, способны оказывать НО-стимулирующее действие на перитонеальные макрофаги сравнимое, а для некоторых образцов значительно превышающее, НО-стимулирующую активность эталонного липополисахарида. Однако на данный момент взаимосвязь между третичной структурой и функциональной активностью полисахаридов до конца не изучена.

Цель исследования – сравнительное изучение химического состава и пространственной структуры кислых полисахаридов (КПС), выделенных из корневищ с корнями аира болотного (*Acorus calamus* L.), надземной части василька ложнопятнистого (*Centaurea pseudomaculosa* Dobroc.), болиголова пятнистого (*Conium maculatum* L.) и листьев березы повислой (*Betula pendula* Roth.), проявивших иммуностимулирующую активность различной степени в эксперименте *in vitro*.

### Экспериментальная часть

**Растительный материал.** Корневища аира болотного (*Acorus calamus* L.) заготовлены в окрестностях Томска в сентябре–октябре 2021 г., надземные части василька ложнопятнистого (*Centaurea pseudomaculosa* Dobroc.), трава болиголова пятнистого (*Conium maculatum* L.) и листья березы повислой (*Betula pendula* Roth.) заготовлены в окрестностях Томска в 2021 г. в фазу цветения.

**Методика выделения кислых полисахаридов из сырья.** КПС выделяли из измельченного сырья с помощью экстракции при нагревании на кипящей водяной бане, экстрагент – вода очищенная, подкисленная хлористоводородной кислотой до pH=3, из сконцентрированных под вакуумом экстрактов КПС осаждали спиртом этиловым 96% (1 : 3) и очищали методом диализа и лиофильно высушивали (рис. 1). Выход определяли гравиметрическим методом [17].

**Общие аналитические методы.** Суммарное содержание углеводов и уроновых кислот определяли фенол-серным методом и его модификацией в пересчете на глюкозу и галактуроновую кислоту соответственно [18, 19]. Для определения примеси белка использовали метод Лоури В (с предварительным осаждением белка) [17]. Примесь нуклеиновых кислот определяли методом Спирина [17]. Спектрофотометрические исследования проводили в кварцевых кюветках 10 мм на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ-Спектр, Россия). ИК-спектры записывали в дисках с КВг на приборе ИК-Фурье спектрометр ФСМ-2201 («Инфраспек», Россия) в интервале 4000–400 см<sup>-1</sup>. Для характеристики молекулярно-массового распределения использовали метод эксклюзионной хроматографии (хроматограф Ultimate 3000 с рефрактометрическим детектором RI-101 (Dionex, Thermo, Германия), подвижная фаза – 0.01 М раствор натрия нитрата; 0.1% натрия азид в воде, колонка – Ultrahydrogel 250 7.8×300 мм, 250 Å, (Waters, США), объем пробы – 10 мкл, скорость потока – 0.5 мл/мин, температура термостата колонки – 30 °С). Для расчета значений среднемассовой (M<sub>w</sub>) и среднечисленной (M<sub>n</sub>) молекулярных масс использовали стандартные образцы пуллуланов (lot. Pulkitsa-10 Mr 342-708000 Da, PSS GmbH) и декстранов (1000–670000 Da, Fluka). Пространственную (тройную) структуру определяли с помощью спектрофотометрического метода по реакции с конго красным (КК) [8]. Конго красный способен специфически связываться с полисахаридами, обладающими структурой тройной спирали, образование комплекса вызывает bathochromный сдвиг максимума поглощения в сравнении с максимумом поглощения чистого конго красного. С увеличением концентрации раствора щелочи происходит разрушение меж-

и внутримолекулярных водородных связей, обусловленное превращением спирали в линейную молекулу, сопровождающееся снижением максимума поглощения. Для этого смешивали 1 мл образца полисахарида (1 мг/мл) с 1 мл КК (80 мкмоль/л) и добавляли раствор NaOH (2 моль/л) до достижения концентрации от 0.0 до 0.5 моль/л (шаг 0.05 моль/л). Строили график зависимости максимума поглощения комплекса ПС+КК от концентрации NaOH.

Ультроструктуру молекул определяли методом сканирующей электронной микроскопии. Исследование выполнено в МИНОЦ «Урановая геология» при отделении геологии Инженерной школы природных ресурсов НИ ТПУ. Изучение образцов выполняли на сканирующем электронном микроскопе Hitachi S-3400N («Hitachi», Япония) с энергодисперсионным спектрометром Bruker XFlash® 5010 для проведения рентгеноспектрального анализа. Образец полисахарида наносили на углеродную ленту, закрепленную на алюминиевом предметном столике, после чего производили напыление проводящим покрытием (Au-Pt). Изучение проводили в режиме высокого вакуума при ускоряющем напряжении 5 кВ, для получения изображений использован детектор вторичных электронов. Снимки делались при увеличениях 3000x и 10000x крат. Обработку спектров проводили в программном пакете «OriginPro 2019b».

**Результаты и обсуждение**

Полученные кислые полисахариды представляли собой порошки от белого до светло-коричневого цвета. Выход КПС можно охарактеризовать следующей зависимостью: КПС АБ > КПС БерП > КПС БолП > КПС ВЛ. Все образцы характеризуются высоким значением общих углеводов (>90 %), содержанием урановых кислот от 24.56 до 53.70% с небольшими примесями белка (около 1%) и нуклеиновых кислот (0.016–0.035%).

Подробная характеристика полученных кислых полисахаридов представлена в таблице и рисунке 2.

На рисунке 3 представлен спектр поглощения исследуемых полисахаридов в ультрафиолетовой и видимой областях. В области от 260 до 280 нм для всех образцов наблюдается значительное поглощение, что свидетельствует о наличии примеси белка и нуклеиновых кислот [20]. Полученные данные соответствуют проведенному химическому анализу.

Согласно данным ИК-спектроскопии (рис. 4), во всех образцах наблюдается широкая интенсивная полоса поглощения в области 3600–3200 см<sup>-1</sup>, обусловленная валентным колебания О-Н группы, и полосы поглощения около 2936–2916 см<sup>-1</sup>, характерные для валентных и деформационных колебаний С-Н в углеводных кольцах [21].

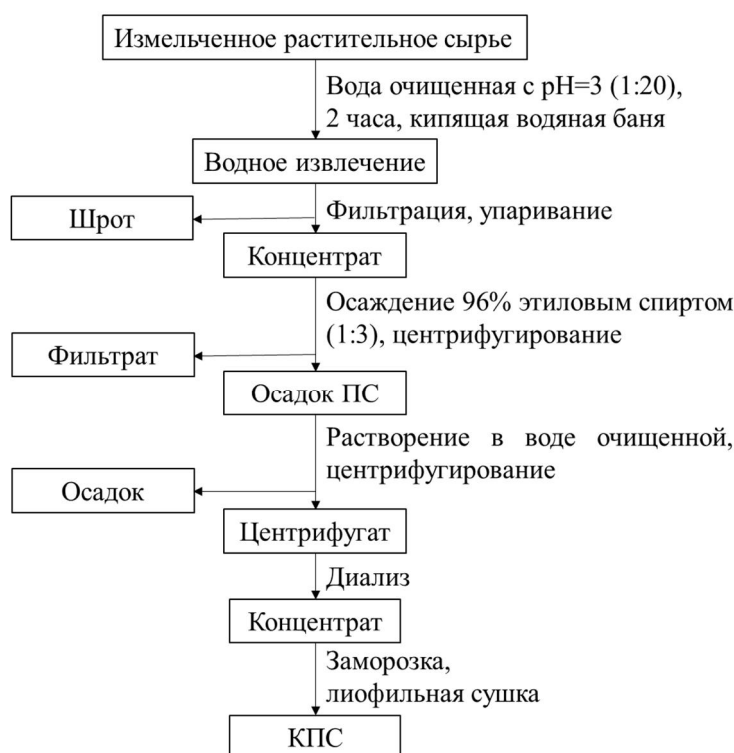


Рис. 1. Схема выделения кислых полисахаридов

Характеристика кислых полисахаридов, полученных из аира болотного, василька ложнопятнистого, болиголова пятнистого и березы повислой ( $\pm$  – стандартное отклонение, n=3)

Показатель		Образцы КПС			
		Аир болотный (АБ)	Василек ложнопятнистый (ВЛ)	Болиголов пятнистый (БолП)	Береза повислая (БерП)
Выход, %		3.40±0.12	0.97±0.50	1.54±0.23	2.52±0.66
Общие углеводы, %		99.83±3.07	91.25±1.21	93.25±2.47	98.60±4.09
Уроновые кислоты, %		53.70±0.25	42.75±1.23	24.56±0.35	36.76±0.65
Белок, %		1.02±0.03	0.81±0.01	0.95±0.06	0.89±0.04
Нуклеиновые кислоты, %		0.016±0.001	0.035±0.002	0.027±0.003	0.030±0.006
Молекулярно-массовые характеристики					
M <sub>w</sub> , Да	по пуллуланам	107700	172200	113800	654600
	по декстранам	95350	155520	101950	610200
M <sub>n</sub> , Да	по пуллуланам	14850	22120	12570	90200
	по декстранам	12090	18370	10220	79960

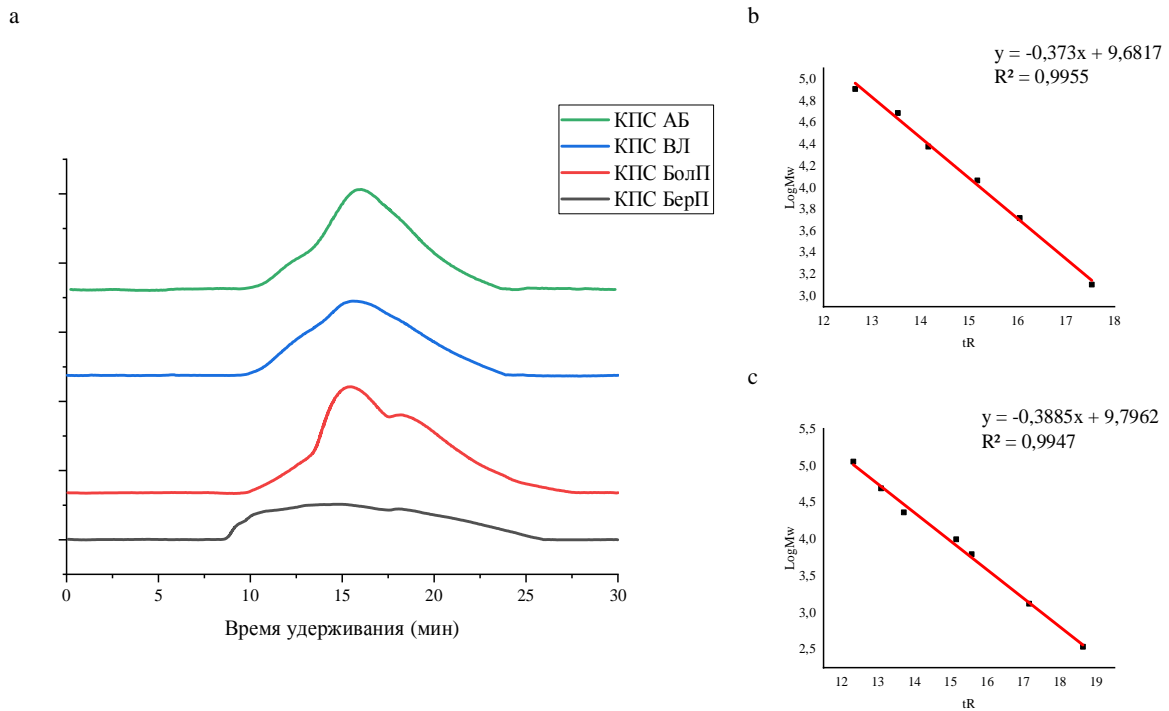


Рис. 2. Хроматограммы изучаемых полисахаридов (а) и градуировочная зависимость, построенная: б – по пуллуланам, с – по декстранам

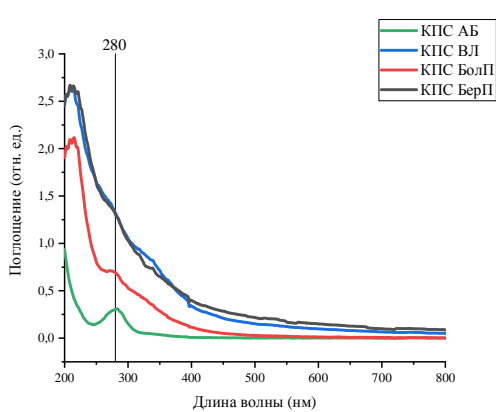


Рис. 3. Ультрафиолетовый спектр

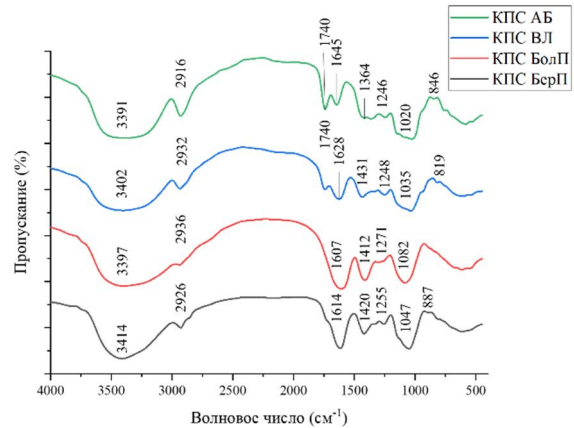


Рис. 4. Инфракрасный спектр

Полосы поглощения при  $1740\text{ см}^{-1}$  подтверждают наличие С-О валентных колебаний [10]. Полосы поглощения в области от  $1645\text{--}1607\text{ см}^{-1}$  соответствуют симметричным и ассиметричным валентным колебаниям С-О в СООН группе, что указывает на наличие уроновых кислот [22]. Область  $1431\text{--}1364$  и  $1271\text{--}1246\text{ см}^{-1}$  можно отнести к валентным колебаниям С-Н и деформационным колебаниям С-О связей в остатках галактуроновой кислоты [23]. Область поглощения  $1082\text{--}1020\text{ см}^{-1}$  соответствует С-О-Н и С-О-С валентным колебаниям [24], а полосы при  $887$  и  $846\text{ см}^{-1}$  свидетельствуют о наличии  $\beta$ -гликозидной связи между моносахаридами. Малоинтенсивный сигнал при  $819\text{ см}^{-1}$  может быть связан с наличием в молекуле небольшого числа остатков, связанных  $\alpha$ -гликозидной связью [25]. Таким образом, ИК-спектроскопия образцов изучаемых КПС позволяет предполагать в структуре значительного числа остатков моносахаридов, связанных  $\beta$ -гликозидной связью.

На рисунке 5 представлены графики зависимости положения максимума поглощения комплекса КПС+КК от концентрации гидроксида натрия в растворе. Наблюдается сдвиг максимума поглощения в длинноволновую область при прибавлении раствора NaOH для образцов кислых полисахаридов КПС АБ, КПС БолП и КПС БерП, что может свидетельствовать о наличии тройной спирали [26–28].

В качестве раствора сравнения использовали крахмал, который является линейной молекулой и не вызывает сдвига максимума поглощения, что показывает отсутствие тройной спирали. Для образца КПС ВЛ, аналогично крахмалу, не наблюдается сдвига максимума поглощения, следовательно, он не обладает структурой тройной спирали [28].

Фотографии сканирующей электронной микроскопии КПС, изображенные на рисунке 6, отображают пространственную морфологию образцов. На рисунке 6а поверхность КПС АБ представлена агломератами, состоящими из более мелких округлых частиц, кроме этого еще присутствуют большие округлые гранулы похожие на включения  $\alpha$ -гликанов [29]. КПС ВЛ (рис. 6б) представляют собой аморфные агрегаты с шероховатой поверхностью [30], КПС БолП (рис. 6с) – агрегаты с неровной поверхностью, состоящие из нескольких единиц [30]. КПС БерП (рис. 6д) – волокна и полосы многократно наложенные друг на друга. Полисахариды с высокой молекулярной массой обладают способностью образовывать межмолекулярные водородные связи, в то время как низкомолекулярные более склонны к образованию водородных связей с молекулами воды [29].

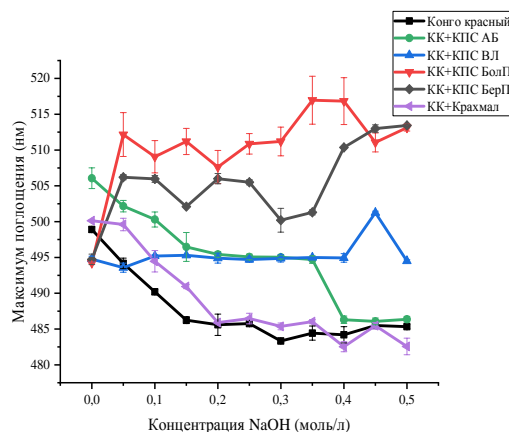


Рис. 5. Зависимость максимума поглощения от концентрации NaOH

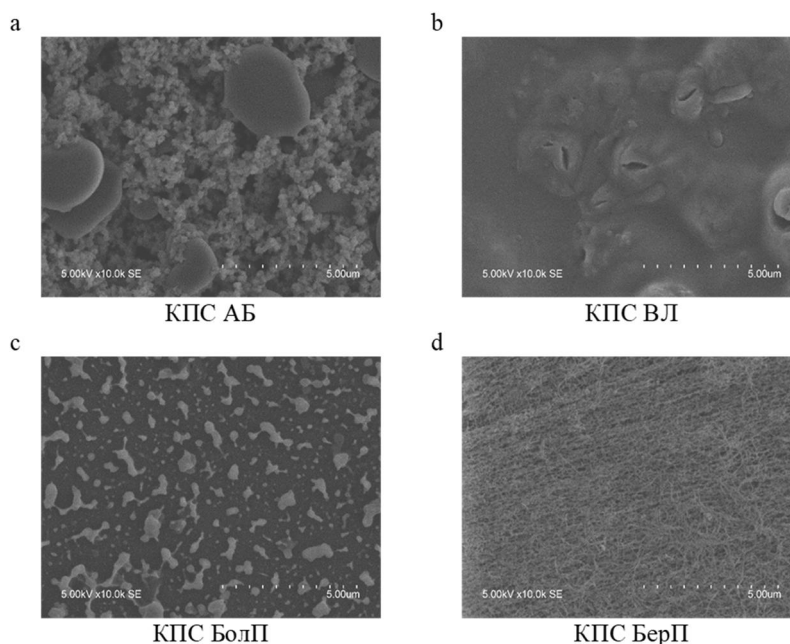


Рис. 6. Сканирующая электронная микроскопия

Результаты микроскопии показывают, что полученные кислые полисахариды различны по ультраструктуре. Образцы, полученные из аира, болиголова и березы, представляют собой объемные структуры, пространственное строение которых может быть обусловлено внутримолекулярными связями и структурой тройной спирали молекулы, а образец василька, обладающий аморфной структурой, не обладает конфигурацией тройной спирали, что подтверждают результаты анализа с конго красным.

### Заключение

В результате получены образцы кислых полисахаридов, охарактеризован их химический состав: общие углеводы содержатся в большом количестве во всех образцах (>90%), содержание урсонических кислот составило от 24.56 до 53.07%, установлено присутствие незначительного количества примеси белка (около 1%) и нуклеиновых кислот (от 0.016 до 0.035%). Оценка молекулярно-массовых характеристик изучаемых кислых полисахаридов с использованием калибровочных зависимостей, построенных по стандартным образцам пуллуланов и декстранов, показала высокую полидисперсность всех образцов. По результатам ИК-спектроскопии установлено наличие в структуре моносахаридных остатков, связанных  $\alpha$ - и  $\beta$ -гликозидными связями. По результатам спектрофотометрии продуктов комплексообразования КПС с конго красным и сканирующей электронной микроскопии установлено наличие структуры тройной спирали и объемной ультраструктуры для полисахаридов, полученных из аира, болиголова и березы, а КПС василька характеризуются аморфной поверхностью и отсутствием структуры тройной спирали.

### Список литературы

1. Wainwright C.L., Teixeira M.M., Adelson D.L., Buenz E.J., David B., Glaser K.B., Harata-Lee Y., Howes M.R., Izzo A.A., Maffia P., Mayer A.M., Mazars C., Newman D.J., Nic Lughadha E., Pimenta A.M., Parra J.A., Qu Z., Shen H., Spedding M., Wolfender J.L. Future directions for the discovery of natural product-derived immunomodulating drugs: an IUPHAR positional review // *Pharmacological research*. 2022. Vol. 177. Article 106076. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106076.
2. Meng Y., Lyu F., Xu X., Zhang L. Recent Advances in Chain Conformation and Bioactivities of Triple-Helix Polysaccharides // *Biomacromolecules*. 2020. Vol. 21. N5. Pp. 1653–1677. DOI: 10.1021/acs.biomac.9b01644.
3. Yin M., Zhang Y., Li H. Advances in Research on Immunoregulation of Macrophages by Plant Polysaccharides // *Frontiers in immunology*. 2019. Vol. 10. Article 145. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00145.
4. Singh D., Rajput A., Bhatia A., Kumar A., Kaur H., Sharma P., Kaur P., Singh S., Attri S., Buttar H.S., Singh B., Arora S. Plant-based polysaccharides and their health functions // *Functional Foods in Health and Disease*. 2021. Vol. 11. N4. Pp. 179–200. DOI: 10.31989/ffhd.v11i5.773.
5. Barbosa J.R., de Carvalho Junior R.N. Polysaccharides obtained from natural edible sources and their role in modulating the immune system: Biologically active potential that can be exploited against COVID-19 // *Trends in food science & technology*. 2021. Vol. 108. Pp. 223–235. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.12.026.
6. Asker M.S., Kady E.M., Mahmoud M.G. New trends of the polysaccharides as a drug // *World Journal of Agriculture and Soil Science*. 2019. Vol. 3. 000572. DOI: 10.33552/WJASS.2019.03.000572.
7. Shen C.Y., Jiang J.G., Li M.Q., Zheng C.-Y., Zhu W. Structural characterization and immunomodulatory activity of novel polysaccharides from *Citrus aurantium* Linn. variant amara Engl // *Journal of Functional Foods*. 2017. Vol. 35. Pp. 352–362. DOI: 10.1016/j.jff.2017.05.055.
8. Guo X., Kang J., Xu Z., Guo Q., Zhang L., Ning H., Cui S. W. Triple-helix polysaccharides: Formation mechanisms and analytical methods // *Carbohydrate polymers*. 2021. Vol. 262. Article 117962. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.117962.
9. Ferreira S.S., Passos C.P., Madureira P., Vilanova M., Coimbra M.A. Structure-function relationships of immunostimulatory polysaccharides: A review // *Carbohydrate polymers*. 2015. Vol. 132. Pp. 378–396. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.05.079.
10. Li C., Dong Z., Zhang B., Huang Q., Liu G., Fu X. Structural characterization and immune enhancement activity of a novel polysaccharide from *Moringa oleifera* leaves // *Carbohydrate polymers*. 2015. Vol. 234. Article 115897. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.115897.
11. Корж А.П., Гурьев А.М., Белоусов М.В., Юсубов М.С. Определение содержания урсонических кислот в полисахаридах мать-и-мачехи, клевера, девясила // *Химия растительного сырья*. 2011. №4. С. 259–264.
12. Wang Q., Sheng X., Shi A., Hu H., Yang Y., Liu L., Fei L., Liu H.  $\beta$ -Glucans: Relationships between Modification, Conformation and Functional Activities // *Molecules*. 2017. Vol. 22. N2. P. 257. DOI: 10.3390/molecules22020257.
13. Lopatina K.A., Safonova E.A., Nevskaya K.V., Stakheeva M.N., Gur'ev A.M., Zueva E.P., Razina T.G., Amosova E.N., Krylov S.G., Belousov M.V. Effect of *Acorus calamus* L. Polysaccharide on CD274 and CD326 Expression by Lewis Lung Carcinoma Cells in Mice // *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2017. Vol. 164. N1. Pp. 102–105. DOI: 10.1007/s10517-017-3934-4.

14. Ligacheva A.A., Sherstoboev E.Y., Danilets M.G., Trofimova E.S., Krivoshchekov S.V., Gur'ev A.M., Bulgakov T.V., Kudashkina N.V., Miroshnichenko A.G., Belousov M.V. Study of Immunotropic Properties of Water-Soluble Polysaccharides Isolated from *Conium maculatum* Grass. // Bulletin of experimental biology and medicine. 2020. Vol. 170. N2. Pp. 203–206. DOI: 10.1007/s10517-020-05033-y.
15. Ligacheva A.A., Danilets M.G., Trofimova E.S., Belsky Y.P., Belska N.V., Zyuz'kov G.N., Zhdanov V.V., Ivanova A.N., Guriev A.M., Belousov M.V., Yusubov M.S., Dygai A.M. Signaling events during macrophage activation with *Betula pendula* roth pectic polysaccharides // Bulletin of experimental biology and medicine. 2014. Vol. 156. N4. Pp. 465–469. DOI: 10.1007/s10517-014-2375-6.
16. Ligacheva A.A., Danilets M.G., Trofimova E.S., Sherstoboev E.Y., Zhdanov V.V., Guriev A.M., Belousov M.V., Yusubov M.S., Korzh A.P., Krivoshchekov S.V., Dygai A.M. Effects of Water-Soluble Polysaccharides with Different Chemical Structure, Isolated from *Acorus calamus* L. and *Trifolium pratense* L., on Nitric Oxide Production: A Screening Study // Bulletin of experimental biology and medicine. 2016. Vol. 160. N3. Pp. 330–335. DOI: 10.1007/s10517-016-3163-2.
17. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIV издания. М., 2018. URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>.
18. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F.A. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // Analytical Chemistry. 1956. Vol. 28. N3. Pp. 350–356. DOI: 10.1021/ac60111a017.
19. Scott R.L. Colorimetric determination of Hexuronic acids in plant materials // Analytical Chemistry. 1979. Vol. 51. Pp. 936–941. DOI: 10.1021/ac50043a036.
20. Song Y., Wen P., Hao H., Zhu M., Sun Y., Zou Y., Requena T., Huang R., Wang H. Structural Features of Three Hetero-Galacturonans from *Passiflora foetida* Fruits and Their in Vitro Immunomodulatory Effects // Polymers. 2020. Vol. 12. N3. P. 615. DOI: 10.3390/polym12030615.
21. Song Y., Zhu M., Hao H., Deng J., Li M., Sun Y., Yang R., Wang H., Huang R. Structure characterization of a novel polysaccharide from Chinese wild fruits (*Passiflora foetida*) and its immune-enhancing activity // International journal of biological macromolecules. 2019. Vol. 136. Pp. 324–331. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.06.090.
22. Zhang J., Chen M., Wen C., Zhou J., Gu J., Duan Y., Zhang H., Ren X., Ma H. Structural characterization and immunostimulatory activity of a novel polysaccharide isolated with subcritical water from *Sagittaria sagittifolia* L. // International Journal of Biological Macromolecules. 2019. Vol. 133. Pp. 11–20. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.04.077.
23. Ровкина К.И., Кривошеков С.В., Гурьев А.М., Юсубов М.С., Белоусов М.В. Водорастворимые полисахариды травы люцерны посевной *Medicago sativa* (*Fabaceae*) флоры Красноярского края // Химия растительного сырья. 2017. №2. С. 57–64. DOI: 10.14258/jcprm.2017021231.
24. Wu M., Feng H., Song J., Chen L., Xu Z., Xia W., Zhang W. Structural elucidation and immunomodulatory activity of a neutral polysaccharide from the Kushui Rose (*Rosa setata* x *Rosa rugosa*) waste // Carbohydrate polymers. 2020. Vol. 232. Article 115804. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115804.
25. Zhu Z.Y., Pan L.C., Han D., Sun H.Q., Chen L.J. Structural properties and antioxidant activities of polysaccharide from fruit bodies of *Pholiota nameko* // Natural product research. 2019. Vol. 33. N11. Pp. 1563–1569. DOI: 10.1080/14786419.2017.1423308.
26. Khatua S., Acharya K. Influence of extraction parameters on physico-chemical characters and antioxidant activity of water soluble polysaccharides from *Macrocybe gigantea* (Masse) Pegler & Lodge // Journal of food science and technology. 2016. Vol. 53. N4. Pp. 1878–1888. DOI: 10.1007/s13197-015-2145-0.
27. Nurmamat E., Xiao H., Zhang Y., Jiao Z. Effects of Different Temperatures on the Chemical Structure and Antitumor Activities of Polysaccharides from *Cordyceps militaris* // Polymers. 2018. Vol. 10. N4. P. 430. DOI: 10.3390/polym10040430.
28. Cao C., Huang Q., Zhang B., Li C., Fu X. Physicochemical characterization and in vitro hypoglycemic activities of polysaccharides from *Sargassum pallidum* by microwave-assisted aqueous two-phase extraction // International Journal of Biological Macromolecules. 2018. Vol. 109. Pp. 357–368. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.12.096.
29. Tan M., Chang S., Liu J., Li H., Xu P., Wang P., Wang X., Zhao M., Zhao B., Wang L., Zhao Q. Physicochemical Properties, Antioxidant and Antidiabetic Activities of Polysaccharides from Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Seeds // Molecules. 2020. Vol. 25. N17. Article 3840. DOI: 10.3390/molecules25173840.
30. Fimbres-Olivarría D., López-Elías J.A., Carvajal-Millán E., Márquez-Escalante J.A., Martínez-Córdova L.R., Miranda-Baeza A., Enríquez-Ocaña F., Valdéz-Holguín J.E., Brown-Bojórquez F. Navicula sp. Sulfated Polysaccharide Gels Induced by Fe(III): Rheology and Microstructure // International journal of molecular sciences. 2016. Vol. 17. N8. Article 1238. DOI: 10.3390/ijms17081238.

Поступила в редакцию 24 декабря 2022 г.

После переработки 15 февраля 2023 г.

Принята к публикации 1 марта 2023 г.

**Для цитирования:** Гулина Е.И., Кривошеков С.В., Исаков Д.А., Белоусов М.В. Выделение, химическая и пространственная характеристика кислых полисахаридов некоторых растений флоры Сибири, обладающих иммунотропной активностью // Химия растительного сырья. 2023. №2. С. 97–105. DOI: 10.14258/jcprm.20230212366.

*Gulina Ye.I.\**, Krivoshchekov S.V., Isakov D.A., Belousov M.V. ISOLATION, CHEMICAL AND SPATIAL CHARACTERIZATION OF ACIDIC POLYSACCHARIDES FROM SOME PLANTS OF SIBERIAN FLORA WITH IMMUNOTROPIC ACTIVITY

Siberian State Medical University, Moskovskiy trakt, 2, Tomsk, 634050 (Russia), e-mail: e.gulina1@gmail.com

Plant polysaccharides have a wide range of biological activity, including an immunotropic effect, the degree and magnitude of which depends on the composition and tertiary structure of the macromolecule. Acidic polysaccharides (APS) were isolated by extraction with an acidic aqueous solution (pH=3) and characterized from the rhizomes of *Acorus calamus* L., the aerial part of *Centaurea pseudomaculosa* Dobroc., the herb *Conium maculatum* L., and the leaves of *Betula pendula* Roth. The content of total carbohydrates was determined for all samples (>90%), uronic acids (24.56–53.70%) and a small amount of impurity substances (protein and nucleic acids 0.81–1.02% and 0.016–0.035%, respectively); molecular weight distribution ( $M_n$ ,  $M_w$ ). Structural features were studied using physicochemical and instrumental methods, such as UV and IR spectroscopy, reaction with Congo red, and scanning electron microscopy. The polysaccharides of *Acorus calamus*, *Conium maculatum*, and *Betula pendula* have a triple-helical conformation and bulky ultrastructure; the polysaccharides of *Centaurea pseudomaculosa* are characterized by the absence of a triple-helical conformation and an amorphous ultrastructure.

**Keywords:** acid polysaccharides, immunotropic activity, structural characteristics.

### References

1. Wainwright C.L., Teixeira M.M., Adelson D.L., Buenz E.J., David B., Glaser K.B., Harata-Lee Y., Howes M.R., Izzo A.A., Maffia P., Mayer A.M., Mazars C., Newman D.J., Nic Lughadha E., Pimenta A.M., Parra J.A., Qu Z., Shen H., Spedding M., Wolfender J.L. *Pharmacological research*, 2022, vol. 177, article 106076. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106076.
2. Meng Y., Lyu F., Xu X., Zhang L. *Biomacromolecules*, 2020, vol. 21, no. 5, pp. 1653–1677. DOI: 10.1021/acs-biomac.9b01644.
3. Yin M., Zhang Y., Li H. *Frontiers in immunology*, 2019, vol. 10, article 145. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00145.
4. Singh D., Rajput A., Bhatia A., Kumar A., Kaur H., Sharma P., Kaur P., Singh S., Attri S., Buttar H.S., Singh B., Arora S. *Functional Foods in Health and Disease*, 2021, vol. 11, no. 4, pp. 179–200. DOI: 10.31989/ffhd.v11i5.773.
5. Barbosa J.R., de Carvalho Junior R.N. *Trends in food science & technology*, 2021, vol. 108, pp. 223–235. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.12.026.
6. Asker M.S., Kady E.M., Mahmoud M.G. *World Journal of Agriculture and Soil Science*, 2019, vol. 3, 000572. DOI: 10.33552/WJASS.2019.03.000572.
7. Shen C.Y., Jiang J.G., Li M.Q., Zheng C.-Y., Zhu W. *Journal of Functional Foods*, 2017, vol. 35, pp. 352–362. DOI: 10.1016/j.jff.2017.05.055.
8. Guo X., Kang J., Xu Z., Guo Q., Zhang L., Ning H., Cui S.W. *Carbohydrate polymers*, 2021, vol. 262, article 117962. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.117962.
9. Ferreira S.S., Passos C.P., Madureira P., Vilanova M., Coimbra M.A. *Carbohydrate polymers*, 2015, vol. 132, pp. 378–396. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.05.079.
10. Li C., Dong Z., Zhang B., Huang Q., Liu G., Fu X. *Carbohydrate polymers*, 2015, vol. 234, article 115897. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.115897.
11. Korzh A.P., Gur'yev A.M., Belousov M.V., Yusubov M.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2011, no. 4, pp. 259–264. (in Russ.).
12. Wang Q., Sheng X., Shi A., Hu H., Yang Y., Liu L., Fei L., Liu H. *Molecules*, 2017, vol. 22, no. 2, p. 257. DOI: 10.3390/molecules22020257.
13. Lopatina K.A., Safonova E.A., Nevskaya K.V., Stakheeva M.N., Gur'ev A.M., Zueva E.P., Razina T.G., Amosova E.N., Krylov S.G., Belousov M.V. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2017, vol. 164, no. 1, pp. 102–105. DOI: 10.1007/s10517-017-3934-4.
14. Ligacheva A.A., Sherstoboev E.Y., Danilets M.G., Trofimova E.S., Krivoshchekov S.V., Gur'ev A.M., Bulgakov T.V., Kudashkina N.V., Miroshnichenko A.G., Belousov M.V. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2020, vol. 170, no. 2, pp. 203–206. DOI: 10.1007/s10517-020-05033-y.
15. Ligacheva A.A., Danilets M.G., Trofimova E.S., Belsky Y.P., Belska N.V., Zyuz'kov G.N., Zhdanov V.V., Ivanova A.N., Guriev A.M., Belousov M.V., Yusubov M.S., Dygai A.M. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2014, vol. 156, no. 4, pp. 465–469. DOI: 10.1007/s10517-014-2375-6.
16. Ligacheva A.A., Danilets M.G., Trofimova E.S., Sherstoboev E.Y., Zhdanov V.V., Guriev A.M., Belousov M.V., Yusubov M.S., Korzh A.P., Krivoshchekov S.V., Dygai A.M. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2016, vol. 160, no. 3, pp. 330–335. DOI: 10.1007/s10517-016-3163-2.
17. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii, XIV izdaniya*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV edition]. Moscow, 2018. URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>. (in Russ.).
18. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F.A. *Analytical Chemistry*, 1956, vol. 28, no. 3, pp. 350–356. DOI: 10.1021/ac60111a017.
19. Scott R.L. *Analytical Chemistry*, 1979, vol. 51, pp. 936–941. DOI: 10.1021/ac50043a036.
20. Song Y., Wen P., Hao H., Zhu M., Sun Y., Zou Y., Requena T., Huang R., Wang H. *Polymers*, 2020, vol. 12, no. 3, p. 615. DOI: 10.3390/polym12030615.

\* Corresponding author.



21. Song Y., Zhu M., Hao H., Deng J., Li M., Sun Y., Yang R., Wang H., Huang R. *International journal of biological macromolecules*, 2019, vol. 136, pp. 324–331. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.06.090.
22. Zhang J., Chen M., Wen C., Zhou J., Gu J., Duan Y., Zhang H., Ren X., Ma H. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, vol. 133, pp. 11–20. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.04.077.
23. Rovkina K.I., Krivoshechekov S.V., Gur'yev A.M., Yusubov M.S., Belousov M.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2017, no. 2, pp. 57–64. DOI: 10.14258/jcprm.2017021231. (in Russ.).
24. Wu M., Feng H., Song J., Chen L., Xu Z., Xia W., Zhang W. *Carbohydrate polymers*, 2020, vol. 232, article 115804. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115804.
25. Zhu Z.Y., Pan L.C., Han D., Sun H.Q., Chen L.J. *Natural product research*, 2019, vol. 33, no. 11, pp. 1563–1569. DOI: 10.1080/14786419.2017.1423308.
26. Khatua S., Acharya K. *Journal of food science and technology*, 2016, vol. 53, no. 4, pp. 1878–1888. DOI: 10.1007/s13197-015-2145-0.
27. Nurmatamat E., Xiao H., Zhang Y., Jiao Z. *Polymers*, 2018, vol. 10, no. 4, p. 430. DOI: 10.3390/polym10040430.
28. Cao C., Huang Q., Zhang B., Li C., Fu X. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 109, pp. 357–368. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.12.096.
29. Tan M., Chang S., Liu J., Li H., Xu P., Wang P., Wang X., Zhao M., Zhao B., Wang L., Zhao Q. *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 17, article 3840. DOI: 10.3390/molecules25173840.
30. Fimbres-Olivarría D., López-Elías J.A., Carvajal-Millán E., Márquez-Escalante J.A., Martínez-Córdova L.R., Miranda-Baeza A., Enríquez-Ocaña F., Valdéz-Holguín J.E., Brown-Bojórquez F. *International journal of molecular sciences*, 2016, vol. 17, no. 8, article 1238. DOI: 10.3390/ijms17081238.

Received December 24, 2022

Revised February 15, 2023

Accepted March 1, 2023

**For citing:** Gulina Ye.I., Krivoshechekov S.V., Isakov D.A., Belousov M.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2023, no. 2, pp. 97–105. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20230212366.

