

УДК 615.322.547.458.88.544

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2020.96.60.002>

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕКТИНОСОДЕРЖАЩИХ ВЕЩЕСТВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ КОСМЕИ ДВАЖДЫПЕРИСТОЙ, МЕЖДУ ДВУМЯ ЖИДКИМИ ФАЗАМИ

**Е.О. Куличенко**, преподаватель кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии, аспирант кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, г. Пятигорск, [evgenia.kuli4enko@yandex.ru](mailto:evgenia.kuli4enko@yandex.ru)

**Л.П. Мыкоц**, канд. фарм. наук, доцент кафедры неорганической, физической и коллоидной химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, г. Пятигорск, [58041@mail.ru](mailto:58041@mail.ru)

**Н.А. Туховская**, канд. хим. наук, преподаватель кафедры аналитической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, г. Пятигорск, [ninatuk@mail.ru](mailto:ninatuk@mail.ru)

**О.А. Андреева**, канд. хим. наук, доцент кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, г. Пятигорск, [oa-51934@yandex.ru](mailto:oa-51934@yandex.ru)

**Э.Т. Оганесян**, доктор фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, г. Пятигорск, [edwardov@mail.ru](mailto:edwardov@mail.ru)

---

В данной работе исследовалось распределение пектиновых веществ, полученных из травы космеи дваждыперистой разных сортов – *Purity*, *Rosea*, *Dazzler*. Диапазон концентраций водных растворов 0,1–1,0%, экстракционные системы «этилацетат – вода», «*n*-октанол – вода». Показана эффективность экстракции в зависимости от сорта космеи дваждыперистой и природы экстрагента.

**Ключевые слова:** жидкостная экстракция, пектиновые вещества, этилацетат, *n*-октанол, *Cosmos bipinnatus* Cav., коэффициент распределения

Космея дваждыперистая (*Cosmos bipinnatus* Cav.) представляет собой однолетнее растение высотой от 50 до 150 см, с мощными, гибкими, прямостоячими и неразветвленными

стеблями. Листья супротивные, дважды рассеченные. Соцветия представлены корзинками. Корзинки крупные, диаметром от 3 до 7 см. Цветки двух типов: срединные – трубчатые, мелкие, пятимерные, актиноморфные, ярко-желтого цвета, краевые – язычковые, крупные, трехмерные, зигоморфные, различной окраски (зависит от сорта). Плод представлен сеянкой серо-коричневого цвета. Космея дваждыперистая в дикой природе встречается в лесах Южной Америки и Мексики. Растение культивируется в климатических условиях различных субъектов Российской Федерации (Ставропольский край, Краснодарский край, Ростовская область, Московская область, Волгоградская область, Астраханская область, Урал, различные районы Сибири, Республика Бурятия, Забайкалье, Южная Якутия и др.), цветет с начала лета до глубокой осени. Космея

дваждыперистая образует плотные высокие заросли, ее часто используют для создания живой изгороди, а также для оформления клумб, рабаток, бордюров. В культуре растение неприхотливо, устойчиво к растительным, бактериальным и грибковым инфекциям. Размножается семенами и вегетативно [1,2].

Космея дваждыперистая представлена множеством сортов, самые распространенные из которых следующие:

- Dazzler – только распустившиеся соцветия этого сорта имеют красный окрас, который со временем меняется на малиновый или фиолетовый, стебли высокие (до 1,5 м), крепкие, прямостоячие, зачастую пигментированы в розовый или фиолетовый цвет;
- Purity – язычковые цветки снежно-белого цвета, трубчатые ярко-желтые, соцветия – корзинки на гибких цветоносах, высотой до 1 метра, стебли крепкие, прямостоячие, не пигментированные в розовый или фиолетовый цвет;
- Rosea – соцветия с язычковыми цветками розового цвета, высотой до 1,5 м, стебли крепкие, прямостоячие, пигментированы в розовый цвет [3,4].

О применении космеи в медицине данных мало, однако известно, что ее корни используются в тибетской медицине как кровоостанавливающее, жаропонижающее, мочегонное, антиоксидантное, тонизирующее средство.

Пектиновые вещества (ПВ) – важные биологические соединения, принимающие участие в производстве и накоплении энергии, удержании воды в клетках, активировании функций иммунной системы, детоксикации организма.

Применение пектинов в фармации и медицине является весьма перспективным. Источники его получения различны: листья, трава, плоды, овощи, ягоды и др.

Поэтому представляло интерес изучение физико-химических свойств и определение возможности применения пектиновых

веществ, выделенных из травы различных сортов космеи.

Химический состав *Cosmos bipinnatus* Cav. в настоящее время мало изучен. В международной литературе имеются сведения о наличии в растениях этого вида флавоноидов, эфирных масел, обладающих антимикробным действием. Углеводный состав можно считать практически неизученным, несмотря на достаточно высокий выход этих соединений при их получении (4–9% от исходной массы сырья), а также большую биомассу растения, неприхотливость выращивания и хорошую устойчивость к растительным инфекциям [5–7].

**Цель** работы – определить коэффициент распределения пектиновых веществ в двухфазной системе «органический растворитель – вода», установить их сорбционную способность. Высокая способность пектиновых веществ переходить из водной фазы в органическую при жидкостной экстракции позволит предположить способность данных ПВ к прохождению через полупроницаемые мембраны, в том числе и биологические. Пектиновые вещества широко применяются в лекарственных формах в качестве природных сорбентов, способных связывать тяжелые металлы. Проникновение ПВ через биологические мембраны внутрь клетки ведет к повышению их активности и предотвращению денатурации клеточных ферментов за счет связывания с тяжелыми металлами. Поэтому очень важно знать физико-химические свойства пектинов, в частности способность их к проникновению в модельных системах, воспроизводящих условия внутренней среды организма.

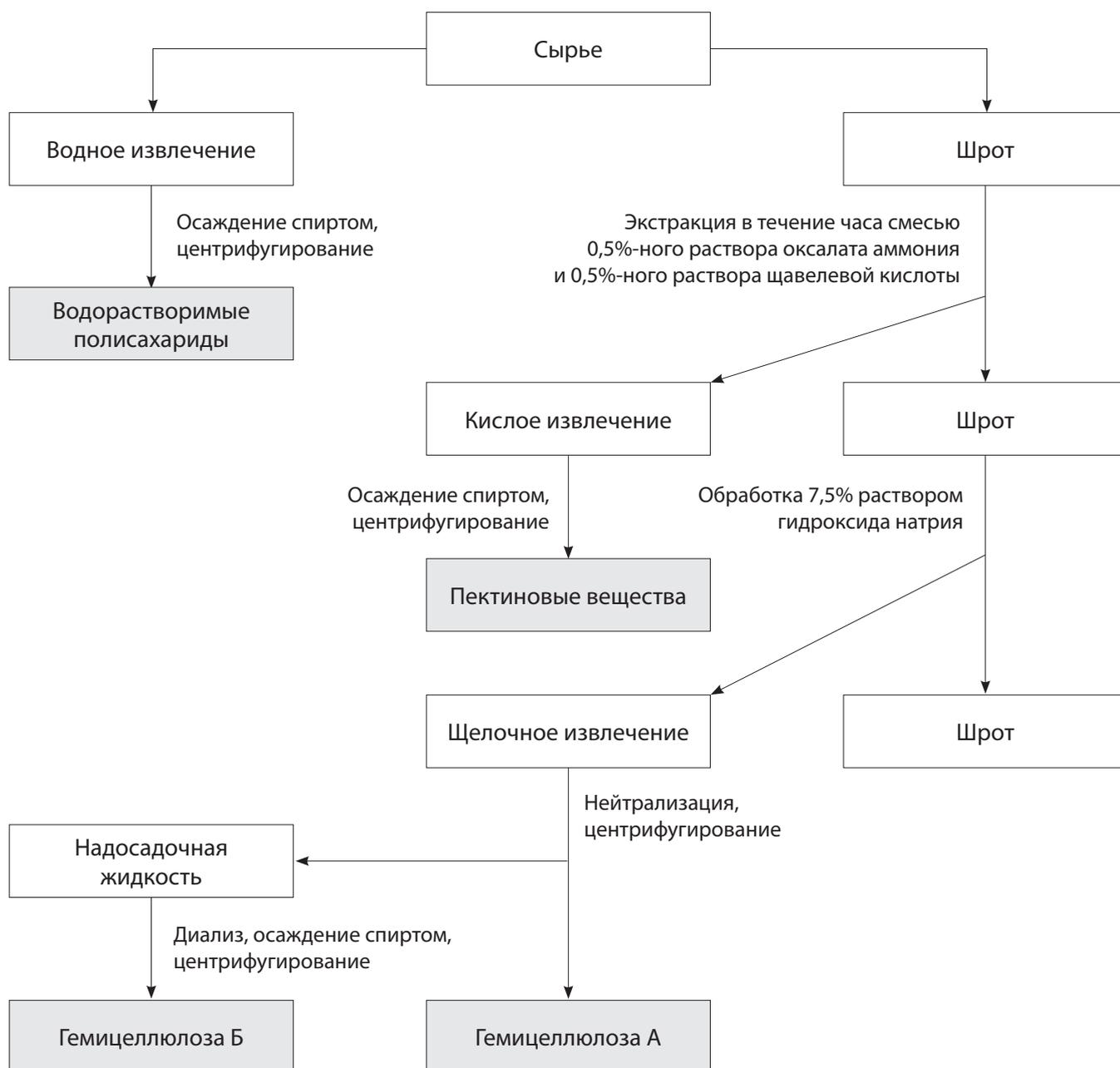
Исследуемые образцы ПВ представляли собой прозрачные и очень легкие пластинки светло-коричневого цвета, кислого запаха и вкуса, были растворимы в воде. После кислотного гидролиза в течение 48 часов на водяной бане определяли моносахаридный состав полученного гидролизата. Установлено,

что в состав ПВ всех сортов входят моносахара: глюкоза, арабиноза, галактурановая кислота [8,9].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение пектиновых веществ из травы трех сортов космеи дваждыперистой проводили по методу Н.К. Кочеткова и М. Sinner (рис. 1),

выход составляет для сорта Purity 4,23%, для сорта Rosea 6,85%, а для сорта Dazzler 8,37%, что само по себе заслуживает внимания с точки зрения использования данного растения в качестве источника препаративного получения этих соединений [10]. В этой связи представляло интерес изучение их физико-химических характеристик, в частности степень извлечения, коэффициент распределения, степень ассоциации.



**РИС. 1.** Схема получения различных фракций полисахаридов из травы космеи дваждыперистой

Для полученных ПВ изучалось их распределение между двумя фазами несмешивающихся жидкостей с привлечением кондуктометрии для установления равновесных концентраций в процессе экстракции. В работе использовали кондуктометр марки «Эксперт-002». Готовились водные растворы в интервале концентраций от 0,1% до 1%, измерялась их электрическая проводимость, строился калибровочный график зависимости от  $C$ .

Метод основан на различной растворимости ПВ в воде и экстрагенте. Чем лучше вещество растворяется в экстрагенте, тем оно более химически устойчиво к нему, чем меньше ПВ растворяет в себе экстрагент, тем более эффективен процесс экстракции и сам метод [12].

К 30 мл водного раствора ПВ добавляли 30 мл органического растворителя. В качестве органического растворителя использовали сложный эфир – этилацетат и спирт – *n*-октанол марки «х.ч.». Данные растворители выбраны с учетом требований, предъявляемым к экстрагентам: низкая растворимость в воде, малая упругость пара при комнатной температуре, высокая экстракционная способность, нетоксичность, отличающаяся от воды плотность. *n*-октанол был выбран потому, что мембраны желудочно-кишечного тракта сравнимы с системой «*n*-октанол – вода».

Растворы периодически встряхивали и после достижения концентрационного равновесия (30 мин.) отделяли водную фазу. Измеряли электрическую проводимость водного раствора и определяли равновесные концентрации ПВ в обеих фазах. Рассчитывали коэффициент распределения – концентрационную константу распределения по формуле (1):

$$K = \frac{C_1}{C_2^n}, \quad [11] (1)$$

где  $n$  – степень ассоциации,  $C_1$  и  $C_2$  – равновесные концентрации ПВ в рафинате и экстрагенте.

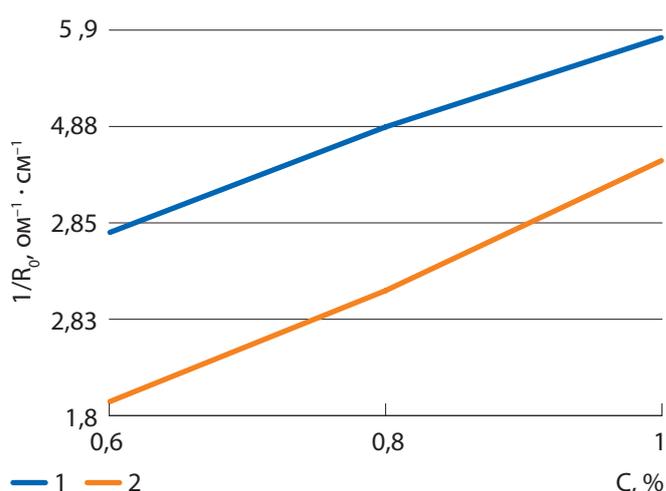
Коэффициент распределения характеризует динамическое равновесие в процессе экстракции. Его величина зависит от природы ПВ, чистоты экстрагента, температуры.

Равновесную концентрацию ПВ в воде определяли, используя линейные зависимости  $1/R_0$  от  $C$ , показанные на примере ПВ, полученных из травы космеи сортов *Rosea* и *Dazzler* (рис. 2).

Степень ассоциации устанавливали с помощью биологарифмической изотермы распределения, показанной на примере ПВ, полученных из травы космеи дваждыперистой сорта *Purity* (рис. 2).

Результаты эксперимента представлены в табл. 1.

Сорбционная способность ПВ по отношению к ионам свинца изучалась *in vitro*. Использовался метод изолирования Оствальда [8], учитывающий изменение концентрации одного участника процесса комплексообразования при минимальном влиянии другого. При этом реакция проводится с избытком сорбента, тогда скорость сорбции пропорциональна концентрации взятого в недостатке реагента (ионов свинца).



**РИС. 2.** Зависимость электрической проводимости водных растворов ПВ от концентрации: 1 – ПВ, полученные из травы космеи дваждыперистой сорта *Rosea*, 2 – ПВ, полученные из травы космеи дваждыперистой сорта *Dazzler*

Таблица 1

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ПРОВОДИМОСТИ  
ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ПВ И РАВНОВЕСНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ**

C, %	$1/R_0 \cdot 10^3,$ $\text{ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$	$1/R_1 \cdot 10^3,$ $\text{ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$	C <sub>1</sub> , %	C <sub>2</sub> , %	lgC <sub>1</sub>	lgC <sub>2</sub>	K	n
<b>Сорт Purity, экстрагент – этилацетат</b>								
0,4	0,56	0,42	0,075	0,025	-1,12	-1,6	1,25	0,76
0,2	1,15	0,81	0,14	0,06	-0,85	-1,22	1,19	
0,1	2,30	1,6	0,28	0,12	-0,55	-0,92	1,4	
							K <sub>cp</sub> = 1,28	
<b>Сорт Rosea, экстрагент – этилацетат</b>								
0,6	3,76	2,67	0,48	0,12	-0,32	-0,92	0,76	0,22
0,8	4,87	3,38	0,52	0,28	-0,28	-0,55	0,68	
1	5,81	3,95	0,66	0,34	-0,18	-0,45	0,84	
							K <sub>cp</sub> = 0,75	
<b>Сорт Rosea, экстрагент – н-октанол</b>								
0,4	1,91	1,50	0,45	0,15	-0,35	-0,82	2,14	0,83
0,8	2,66	2,09	0,61	0,19	-0,21	-0,72	2,44	
1	3,20	2,50	0,80	0,20	-0,09	-0,69	3,07	
							K <sub>cp</sub> = 2,55	
<b>Сорт Dazzler, экстрагент – этилацетат</b>								
0,6	1,69	1,93	0,59	0,01	-0,23	-2,00	0,85	0,08
0,8	3,13	2,59	0,71	0,09	-0,15	-1,05	0,85	
1	4,50	3,06	0,96	0,04	-0,02	-1,39	1,0	
							K <sub>cp</sub> = 0,9	

После взаимодействия ацетата свинца с водными растворами ПВ и отделения осадка пектата свинца определение ионов свинца в фильтрате проводили титрованием 0,01 М ЭДТА (натрия этилендиаминтетраацетат двузамещенный) в среде ацетатного буфера (рН=5). В качестве индикатора использовали ксиленоловый оранжевый. Титрование проводили до перехода малиновой окраски в лимонно-желтую [8]. Результаты эксперимента пред-

ставлены на примере ПВ, полученных из космеи дваждыперистой сорта Rosea, в табл. 2.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Графически определить константу распределения и степень ассоциации помогает логарифмирование уравнения изотермы распределения:

Таблица 2

**ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ Pb<sup>2+</sup> В ПРОЦЕССЕ СОРБЦИИ НА ПВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТРАВЫ КОСМЕИ ДВАЖДЫПЕРИСТОЙ СОРТА ROSEA**

Сорт	t, мин.	Количество ионов Pb <sup>2+</sup> , мг/г	Количество ионов Pb <sup>2+</sup> , ммоль/л	Процент связывания, %	КС, мг/г
Rosea	0	82,9	40,0	–	–
	5	53,9	26,0	65,0	359,2
	10	18,7	9,0	77,5	428,3
	20	16,6	8,0	80,0	442,1
	30	14,5	7,0	82,5	456,0
	60	14,5	7,0	82,5	456,0

$$\lg K = \lg C_1 - n \lg C_2; \quad (2)$$

Это уравнение прямой позволяет определить степень ассоциации как тангенс угла наклона графика к оси абсцисс.

Отрезок, отсекаемый прямой от оси ординат, соответствует lgK.

Исследуемые ПВ являются полиэлектролитами, которые в зависимости от pH могут находиться как в молекулярной, так и в ионной форме. Изоэлектрическая точка ПВ, определенная в ацетатном буферном растворе, составила pH=4,7. Эту концентрацию водородных ионов поддерживали при экстракции. В дальнейшем предполагается изучение этого процесса в условиях, близких к кислотности желудка, кишечника и температуре тела.

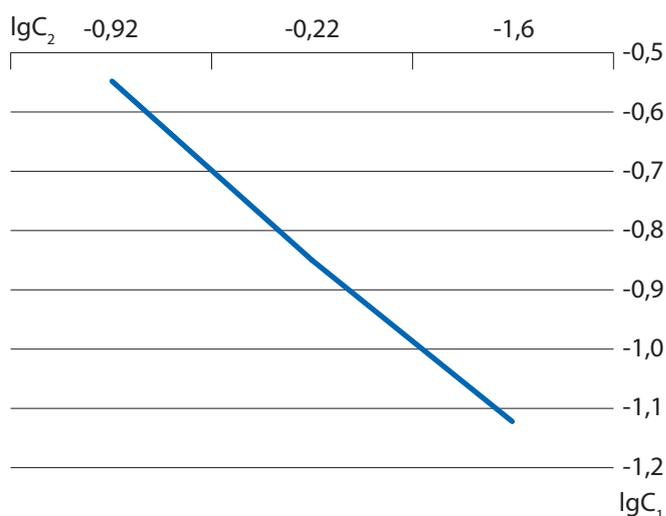
Для оценки эффективности экстракции мы рассчитывали массу экстрагируемого ПВ и степень извлечения по формуле:

$$m = m_0 \left[ 1 - \left( \frac{KV_1}{KV_1 + V_2} \right) \right], \quad [12] (3)$$

где m<sub>0</sub>, m<sub>1</sub> – массы исходного ПВ и экстрагируемого; V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> – объемы водного раствора и этилацетата; K – коэффициент распределения.

Степень извлечения определяли по отношению масс извлеченного ПВ в экстрагенте и содержащегося в исходном водном растворе. Расчеты показали, что степень извлечения ПВ этилацетатом для космеи сортов Rosea, Purity, Dazzler составила соответственно 57,1%, 52,9%, 48,1%. Степень извлечения ПВ космеи сорта Rosea н-октанолом оказалась низкой и составила 28,3%.

Анализ процесса экстракции показывает, что переход ПВ из водной фазы в гидро-



**РИС. 3.** Логарифмическая изотерма распределения ПВ из космеи сорта Purity в системе растворителей «этилацетат – вода»

Таблица 3

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПВ КОСМЕИ ДВАЖДЫПЕРИСТОЙ**

Сорт	М, г/моль	А, ммоль/г	Сорбция Pb <sup>2+</sup> , %	К	α*, %
Rosea	21612	26,4	85,2	0,75	57,1
Dazzler	13715	24,1	75,0	0,90	52,9
Purity	10071	22,4	70,0	1,08	48,1

\* Экстрагент – этилацетат.

фобную проходит более свободно и эффективно для ПВ, полученных из космеи сорта Rosea. Сравнение результатов экстракции ПВ из травы сорта Rosea этилацетатом и н-октанолом (табл. 1) показало, что экстракция этого полисахарида проходит эффективнее в присутствии этилацетата. Величина коэффициента распределения в его присутствии оказалась в три раза меньше. При экстракции этилацетатом коэффициент распределения составил: 0,75 для ПВ космеи сорта Rosea, 0,9 для ПВ космеи сорта Dazzler, 1,28 для ПВ космеи сорта Purity. Однако при экстракции ПВ, полученных из космеи сорта Rosea н-октанолом, коэффициент распределения увеличился до 2,55, что свидетельствует о его низкой экстракционной способности. Это подтверждает зависимость коэффициента распределения от состава обеих фаз при одной температуре.

Показано, что во всех случаях процесс распределения ПВ в органический слой протекает самопроизвольно. Величина изобарно-изотермического потенциала была в пределах -0,26 ÷ -0,71 кДж/моль (ΔG<0). Массоперенос ПВ из водной фазы в органическую проходил быстрее в присутствии этилацетата.

Для ПВ, выделенных из травы космеи трех разных сортов в условиях эксперимента *in vitro*, это не является затруднительным. Поэтому будет актуальным изучение экстракции в условиях, близких к жизнедеятельности

организма. Независимо от биологической активности коэффициент распределения имеет большое значение для доставки лекарственных веществ к месту его воздействия.

Полученные результаты коррелируются с проведенными ранее экспериментами по определению молекулярной массы (М), величины экспериментальной адсорбции ионов Pb<sup>2+</sup> (А) и сорбционной активности (α) [13].

**ВЫВОДЫ**

Сравнительный результат показывает, что наибольшей сорбционной активностью по отношению к ионам Pb<sup>2+</sup> и наименьшим коэффициентом распределения обладают ПВ космеи сорта Rosea. После изучения биологической активности ПВ можно рассматривать их практическое применение в качестве природных сорбентов тяжелых металлов. С увеличением молекулярной массы возрастают не только адсорбционные, но и абсорбционные свойства ПВ всех сортов космеи дваждыперистой, о чем свидетельствуют данные по величинам коэффициента распределения и степени экстракции (α).

Проведенные исследования позволили установить следующую научно-практическую значимость эксперимента:

- траву космеи дваждыперистой можно рассматривать как источник получения ПВ;

- для оценки количественного содержания ПВ в водных растворах можно использовать метод кондуктометрии;
  - использование жидкостной экстракции и расчет коэффициента распределения позволяет оценить самопроизвольность перехода ПВ из водной в гидрофобную фазу. Показано, что в условиях эксперимента *in vitro* это не является затруднительным, что позволит в дальнейшем проводить исследования *in vivo*.
  - изучение комплексообразующей способности по отношению к ионам  $Pb^{2+}$  позволило определить хорошую сорбционную способность (48–57%), что позволяет рассматривать ПВ в качестве средства, используемого при интоксикации организма тяжелыми металлами, без нарушения при этом биологического баланса организма.
6. Edward F.G., Teresa H. *Cosmos bipinnatus* // *Fact sheet FPS-148, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida*. 1999. P. 1–3.
  7. Harborne J.B. *Comparative Biochemistry of Flavonoids – I. Distribution of Chalcone and Aurone pigments in Plants // Phytochemistry*. 1966. Vol. 5. P. 111–115.
  8. Аджиахметова 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 рябинника рябинолистного // *Фармация и фармакология*. 2017, №5, с. 442–456.
  9. 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 reclinate* (L.) Mill.), листьев шелковицы черной (*Morus nigra* L.) и шелковицы белой (*Morus alba* L.) // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2013, №10, с. 20–25.
  10. Кочетков Н.К., Бочков А.Ф., Дмитриев Б.А., Усов А.И., Чижов О.С., Шибяев В.Н. *Химия углеводов*. – М., 1967, – 672 с.
  11. Элесханова А.И., Мыкоц Л.П., Жилина О.М. Исследование распределения растительных полисахаридов в системе «органический растворитель – вода» // 71-я Международная научно-практическая конференция «Во имя жизни и здоровья» НОМУС, 17–18 мая 2018. – Пятигорск, с. 42–49.
  12. Богдашев Н.Н. *Физическая химия* // Н.Н. Богдашев, Л.П. Мыкоц. – Пятигорск: РИА на КМВ, 2008, – 259 с.
  13. Куличенко Е.О., Мыкоц Л.П., Андреева О.А., Оганесян Э.Т. // *О некоторых вопросах и проблемах современной медицины / Сб. науч. тр. по итогам Международной научно-практической конференции*. Вып. 4. 11.07.2017. – Челябинск. С. 42–46.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Cosmos bipinnatus* Cav. in GBIF Secretariat (2017). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist Dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2018-03-05.
2. Polunin Ivan. 2010. *Plants and Flowers of Singapore*. Malaysia: Marshall Cavendish Editions. Checklist Dataset accessed via on 2018-03-05.
3. Christopher Buschhaus, Chen Peng, Reinhard Jetter. *Very-long-chain 1,2- and 1,3-bifunctional compounds from the cuticular wax of Cosmos bipinnatus petals // Phytochemistry*. 2013. Vol. 91. P. 249–256.
4. *Жизнь растений*. Т. 5. Часть 1. – М.: Просвещение, 1980. – 430 с.
5. Christopher Buschhaus, Dana Hager, Reinhard Jetter. *Wax Layers on Cosmos bipinnatus Petals Contribute Unequally to Total Petal Water Resistance // Plant Physiol*. 2015. Vol. 167. P. 80–88.

## DISTRIBUTION OF PECTIN-CONTAINING SUBSTANCES OBTAINED FROM DOUBLE-FEATHERY COSMOS BETWEEN TWO LIQUID PHASES

**E.O. Kulichenko, L.P. Mykots, N.A. Tukhovskaya, O.A. Andreeva, E.T. Oganessian**

*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia*

*Abstract (annotation): in this work, we studied the distribution of pectin substances obtained from the double-feathery cosmos herb, of different varieties («Purity», «Rosea», «Dazzler»). The concentration range of aqueous solutions is 0.1–1.0%, extraction systems «ethyl acetate-water», «n-octanol-water». The efficiency of extraction is shown depending on the variety of double-feathery cosme and the nature of the extractant.*

**Keywords:** liquid extraction, pectin substances, ethyl acetate, n-octanol, Cosmos bipinnatus Cav., Distribution coefficient.