

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ В НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ *POTENTILLA ANSERINA* L.

Е.С. Тютрина¹, Е.Е. Савельева¹, В.И. Курбатский²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск;

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск

Для цитирования: Тютрина Е.С., Савельева Е.Е., Курбатский В.И. Количественное определение водорастворимых полисахаридов в надземной части *Potentilla anserina* L. // Аспирантский вестник Поволжья. – 2020. – № 5–6. – С. 191–196. DOI: <https://doi.org/10.17816/2072-2354.2020.20.3.191-196>

Поступила: 03.08.2020

Одобрена: 27.08.2020

Принята: 14.09.2020

■ В статье представлены результаты разработки гравиметрической методики количественного определения водорастворимых полисахаридов в надземной части лапчатки гусиной (*Potentilla anserina* L.).

Цель работы — разработка методики количественного определения водорастворимых полисахаридов и определение их содержания в надземной части *Potentilla anserina* L., собранной в различных регионах Сибирского федерального округа.

Материалы и методы. Объектом исследования служила надземная часть *Potentilla anserina* L., собранная во время цветения в июне месяце. Для разработки методики количественного определения водорастворимых полисахаридов были использованы сборы 2016 г. из с. Верхнеусинского Ермаковского района, Красноярского края. Количественное определение водорастворимых полисахаридов проводили в надземной части *Potentilla anserina* L., собранной во время цветения в июне 2017 г. на территории Красноярского края (с. Слизнево), Томской области (Томский район), Республики Бурятия (Заиграевский район, с. Старая Брянь). Сушка надземной части производилась воздушно-теньевым способом. Определение водорастворимых полисахаридов проводилось гравиметрически, для определения оптимальных условий, при которых происходит максимальный выход водорастворимых полисахаридов, варьировали такими параметрами, как степень измельчения сырья, соотношение «сырье : экстрагент», кратность экстракции, соотношение «извлечение : спирт этиловый 95 %».

Результаты. Наибольшее количество водорастворимых полисахаридов извлекалось при соблюдении следующих параметров: степень измельчения сырья 0,5–1,0 мм; соотношение «сырье : экстрагент» 1 : 10; кратность экстракции равна 5; соотношение «извлечение : спирт этиловый 95 %» 1 : 4. Содержание водорастворимых полисахаридов составило $7,55 \pm 0,36$ %, ошибка анализа не превышала 5 %.

Заключение. Разработана гравиметрическая методика количественного определения водорастворимых полисахаридов в надземной части *P. anserina* L. Содержание водорастворимых полисахаридов в надземной части *P. anserina* L., собранной в различных регионах Сибирского федерального округа колеблется от 5,95 % (Красноярский край) до 10,25 % (Республика Бурятия), ошибка анализа не превышает 5 %.

■ **Ключевые слова:** лапчатка гусиная; *Potentilla anserina* L.; надземная часть; полисахариды; стандартизация.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF WATER-SOLUBLE POLYSACCHARIDES IN THE AERIAL PART OF *POTENTILLA ANSERINA* L.

Е.С. Tyutrina¹, Е.Е. Savelieva¹, V.I. Kurbatsky²

¹ Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia;

² National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

For citation: Tyutrina ES, Savelieva EE, Kurbatsky VI. Quantitative determination of water-soluble polysaccharides in the aerial part of *Potentilla anserina* L. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhia*. 2020;(5-6):191–196. DOI: <https://doi.org/10.17816/2072-2354.2020.20.3.191-196>

Received: 03.08.2020

Revised: 27.08.2020

Accepted: 14.09.2020

■ The article presents the gravimetric technique which was developed for the quantitative determination of water-soluble polysaccharides (WSPS) in the aerial part of *Potentilla anserina* L.).

The purpose of the work was to develop the method of the quantitative determination of WSPS and the determination of their content in the aerial part of *Potentilla anserina* L., collected in various regions of Siberian federal district.

Materials and methods. The object of the study was the aerial part of *Potentilla anserina* L., collected in June during flowering. To develop the method for the quantitative determination of the WSPS, herb mixtures collected in 2016 in vil. Verkhneussinskoe of Ermakovsky district, Krasnoyarsk Territory were studied. The amount of WSPS was determined in the above-ground part of *Potentilla anserina* L., collected during flowering in June 2017 in the Krasnoyarsk Territory (vil. Sliznevo), Tomsk Region (Tomsk Region), and the Republic of Buryatia (Zaigraevsky District, vil. Staraya Bryan). The above-ground parts were air dried in the shade. Determination of water-soluble polysaccharides was carried out gravimetrically in order to determine the optimal conditions for the maximum yield of water-soluble polysaccharides. There was some variety in the degree of grinding of raw material, raw material / extractant index, extraction ratio, the ratio of "extraction and ethyl alcohol 95%."

Results. The greatest amount of water-soluble polysaccharides was extracted in the following conditions: the degree of grinding of raw material of 0.5-1.0 mm; the ratio of "raw material and extractant" was 1 : 10; the extraction rate was 5; the ratio of "extraction and ethyl alcohol 95%" was 1 : 4. The content of water-soluble polysaccharides was $7.55 \pm 0.36\%$, the analysis error did not exceed 5%.

Conclusion. A gravimetric technique for the quantitative determination of water-soluble polysaccharides in the aerial part of *P. anserina* L. has been developed. The content of water-soluble polysaccharides in the aerial part of *P. anserina* L. collected in various regions of the Siberian Federal District ranges from 5.95% (Krasnoyarsk Region) to 10.25% (Republic of Buryatia), the analysis error does not exceed 5%.

■ **Keywords:** cinquefoil goose; *Potentilla anserina* L.; aerial parts; polysaccharides; standartization.

Введение

В медицинской практике широко используются биологически активные вещества растительного происхождения, в связи с чем актуальной задачей фармации и фармакогнозии является поиск новых природных лекарственных средств [10, 11]. Внимание ученых привлекает род лапчатка (*Potentilla* L.) семейства розоцветные (*Rosaceae* L.), который насчитывает более 420 видов, из них около 150 видов произрастает на территории России [12, 16]. Лапчатка гусиная (*Potentilla anserina* L.) широко распространена по всему северному полушарию Земли и применяется в народной медицине многих стран как противовоспалительное средство при воспалении слизистых оболочек ротовой полости, желудочно-кишечного тракта, диареи, при камнях в почках, спастических болях [7–9]. Указанные фармакологические эффекты обусловлены комплексом фенольных соединений: дубильные вещества (эллаготанины), флавоноиды (рутин, изокверцитрин, кверцитрин), фенолкарбоновые кислоты [13, 14]. Значительный интерес представляет исследование водорастворимых полисахаридов (ВРПС), выделенных из лапчатки гусиной и их фармакологических эффектов. Обычно водорастворимые полисахариды растений проявляют обволакивающее свойство и применяются при воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей. Последние же исследования показали, что ВРПС могут проявлять

и другие фармакологические эффекты: иммуномодулирующие, противоопухолевые, противодиабетические, антиоксидантные, противовирусные, гепатопротекторные [17–19]. В литературе подробно описано изучение состава и фармакологических свойств ВРПС, выделенных из корней лапчатки гусиной, которые представляют собой гетерополисахариды, состоящие из ксилозы, арабинозы, глюкозы, рамнозы, маннозы, фукозы, галактозы, глюкуроновой и галактуруновой кислот [5]. Для них установлена дозозависимая противоопухолевая активность в отношении саркомы мышей, а также усиление активности Т-лимфоцитов и фагоцитов [1, 3], антиоксидантная активность [4, 6], противокашлевое и отхаркивающее действие [2]. Наличие ВРПС установлено нами и в надземной части растения.

Целью данной работы явилась разработка методики количественного определения ВРПС и определение их содержания в надземной части *Potentilla anserina* L., собранной в различных регионах Сибирского федерального округа.

Материалы и методы

Объектом исследования служила надземная часть *Potentilla anserina* L., собранная во время цветения в июне месяце. Для разработки методики количественного определения ВРПС были использованы сборы 2016 г. из с. Верхнеусинского Ермаковского района,

Красноярского края. Количественное определение ВРПС проводили в надземной части *Potentilla anserina* L., собранной во время цветения в июне 2017 г. на территории Красноярского края (с. Слизнево), Томской области (Томский район), Республики Бурятия (Заиграевский район, с. Старая Брянь). Сушка надземной части производилась воздушно-теневым способом.

Определение полисахаридов в надземной части лапчатки гусиной проводили гравиметрически [15]. При разработке методики количественного определения ВРПС варьировали следующими параметрами:

- 1) степень измельчения сырья;
- 2) соотношение «сырье : экстрагент»;
- 3) кратность экстракции;
- 4) соотношение «извлечение : спирт этиловый 95 %».

На основании полученных данных была разработана методика количественного определения ВРПС в надземной части *P. anserina* L.

Методика. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1,0 мм. Около 10 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 500 мл, прибавляют 100 мл воды очищенной. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и кипятят на электрической плитке в течение 30 мин. Экстракцию повторяют еще 4 раза при вышеуказанных условиях. Водные извлечения центрифугируют

с частотой вращения 2500 об/мин в течение 20 мин и декантируют в мерную колбу вместимостью 500 мл через воронку с 5 слоями марли, предварительно смоченной водой. Фильтр промывают водой и доводят объем раствора водой до метки (раствор А).

Раствора А в количестве 25,0 мл помещают в стакан вместимостью 200–250 мл, прибавляют небольшими порциями 100 мл 95 % этилового спирта при постоянном перемешивании и нагревают на водяной бане при 60 °С в течение 5 мин. Через 30 мин извлечение центрифугируют с частотой вращения 2500 об/мин в течение 20 мин. Надосадочную жидкость фильтруют под вакуумом через стеклянный фильтр ПОР 16 диаметром 40 мм, высушенный до постоянной массы при температуре 100–105 °С. Затем осадок количественно переносят на тот же фильтр и промывают 15 мл смеси спирта этилового 95 % и воды (3 : 1) и 10 мл смеси этилацетата и спирта этилового 95 % (1 : 1). Фильтр с осадком сушат сначала на воздухе, затем при температуре 100–105 °С до постоянной массы.

Содержание суммы полисахаридов в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 500 \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где m_1 — масса фильтра, г; m_2 — масса фильтра с осадком, г; a — навеска сырья, г; W — влажность сырья, %.

Таблица 1 / Table 1

Влияние изменения параметров на полноту экстракции водорастворимых полисахаридов из надземной части лапчатки гусиной

The way the change in parameters influence the volume of extraction of WSPS from the aerial part of cinquefoil goose

Степень измельчения сырья, мм	Соотношение «сырье : экстрагент»	Кратность экстракции	Соотношение «извлечение : спирт этиловый 95 %»	Количество водорастворимых полисахаридов, %
3,0	10 : 200	3	1 : 3	4,68 4,15 3,78
	10 : 100	5	1 : 3	6,67 6,20 6,32
2,0	10 : 300	3	1 : 3	4,37 3,98 4,20
	10 : 200	3	1 : 3	6,76 5,74 7,26
	10 : 100	5	1 : 3	5,65 5,21 6,35

Степень измельчения сырья, мм	Соотношение «сырье : экстрагент»	Кратность экстракции	Соотношение «извлечение : спирт этиловый 95 %»	Количество водорастворимых полисахаридов, %
1,0	10 : 200	3	1 : 3	4,81
				4,03
				5,10
	10 : 100	5	1 : 3	7,13
				7,16
				6,96
	10 : 100	5	1 : 4	7,60
				7,68
				7,60

Результаты и обсуждение

Изучение влияния различных факторов на выход ВРПС из надземной части лапчатки гусиной представлены в табл. 1. Наибольшее количество ВРПС извлекалось при соблюдении следующих параметров: степень измельчения сырья 0,5–1,0 мм; соотношение «сырье : экстрагент» 1 : 10; кратность экстракции равна 5; соотношение «извлечение : спирт этиловый 95 %» 1 : 4.

В результате исследования по подбору оптимальных условий и разработке методики количественного определения ВРПС было выявлено, что максимальный выход ВРПС составляет $7,55 \pm 0,36$ %, ошибка анализа не превышает 5 % (табл. 2).

Содержание водорастворимых полисахаридов в лапчатке гусиной, собранной в различных регионах, определяли гравиметрически по разработанной методике (табл. 3).

Таблица 2 / Table 2

Метрологическая характеристика разработанной методики
Metrological characteristics of the developed technique

Степень измельчения сырья	Соотношение «сырье : экстрагент»	Соотношение «извлечение : спирт этиловый 95 %»	Кратность экстракции	Количество водорастворимых полисахаридов, %	Метрологическая характеристика
1,0	10 : 100	1 : 4	5	7,60 7,68 7,60 7,30 7,57	$\bar{X} = 7,55$ $S_2 = 0,2912$ $\Delta X = 0,36$ $E = \pm 4,80$ %

Таблица 3 / Table 3

Содержание водорастворимых полисахаридов в надземной части лапчатки гусиной, собранной в различных регионах Сибирского федерального округа

The amount of WSPS in the aerial part of cinquefoil goose collected in different parts of Siberian Federal District

Образец, место сбора	Водорастворимые полисахариды, %	Метрологические характеристики
1. Томская область	7,95 7,81 7,93	$\bar{X} = 7,89$ % $S_2 = 0,14$ $\Delta X = 0,36$ $E = \pm 4,63$ %
2. Красноярский край	5,91 5,96 6,00	$\bar{X} = 5,95$ % $S_2 = 0,05$ $\Delta X = 0,14$ $E = \pm 2,37$ %
3. Республика Бурятия	10,34 10,23 10,19	$\bar{X} = 10,25$ % $S_2 = 0,08$ $\Delta X = 0,20$ $E = \pm 2,03$ %

Заключение

1. Разработана гравиметрическая методика количественного определения ВРПС в надземной части *P. anserina* L. с относительной ошибкой до 5 %.
2. Содержание ВРПС в надземной части *P. anserina* L., собранной в различных регионах Сибирского федерального округа, колеблется от 5,95 % (Красноярский край) до 10,25 % (Республика Бурятия).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Liu S, Li S, Song J, et al. Anticancer effects of polysaccharide from *Potentilla anserina*. *Chin JMAP*. 2011;28(3):185–188.
2. Guo T, Wei JQ, Ma JP. Antitussive and expectorant activities of *Potentilla anserina*. *Pharm Biol*. 2016;54(5):807–811. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1080734>.
3. Chen J-R, Yang Z-Q, Hu T-J, et al. Immunomodulatory activity in vitro and in vivo of polysaccharide from *Potentilla anserina*. *Fitoterapia*. 2010;81(8):1117–1124. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.07.009>.
4. Wang J, Zhang J, Zhao B, et al. A comparison study on microwave-assisted extraction of *Potentilla anserina* L. polysaccharides with conventional method: Molecule weight and antioxidant activities evaluation. *Carbohydr Polym*. 2010;80:84–93.
5. Xia L, Sun ZW, Li GL, et al. A sensitive analytical method for the component monosaccharides of the polysaccharides from a Tibetan herb *Potentilla anserina* L. by capillary zone electrophoresis with UV detector. *Eur Food Res Technol*. 2010;230:715–722. <https://doi.org/10.1007/S00217-009-1212-Z>.
6. Hua T-J, Shuai X-H, Chen J-R, et al. Protective effect of a *Potentilla anserina* polysaccharide on oxidative damages in mice. *Int J Biol Macromol*. 2009;45(3):279–283. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2009.06.011>.
7. Chen HQ, Zhang RX, Huang LQ. Review on *Potentilla anserina* L. a kind of Tibetan herbs. *J Clin Mater Med*. 2000;25:311–313.
8. Khare CP. Indian medicinal plants. Springer; 2007. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-70638-2>.
9. PDR for Herbal Medicines. Montvale: Medical Economics Company; 2000.
10. Jamshidi-Kia F, Lorigooini Z, Amini-Khoei H. Medicinal plants: Past history and future perspective. *J Herb Pharmacol*. 2018;7(1):1–7. <https://doi.org/10.15171/jhp.2018.01>.
11. Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants and the human needs. *J Herbmед Pharmacol*. 2012;1(1):1–2.
12. Камелин Р.В. Лапчатка – *Potentilla* L. // Флора Восточной Европы. – СПб.: Мир и семья, 2001. – Т. 10. – С. 394–452. [Kamelin RV. Lapchatka – *Potentilla* L. In: Flora Vostochnoi Evropy. Saint Petersburg: Mir i sem'ya; 2001;10:394–452. (In Russ.)]
13. Olennikov DN, Kashchenko NI, Chirikova NK, Kuzmina SS. Phenolic profile of *Potentilla anserina* L. (*Rosaceae*) herb of siberian origin and development of a rapid method for simultaneous determination of major Phenolics in *P. anserina* pharmaceutical products by microcolumn RP-HPLC-UV. *Molecules*. 2014;20(1):224–248. <https://doi.org/10.3390/molecules20010224>.
14. Tomczyk M, Pleszczyńska M, Wiater A. Variation in total polyphenolics contents of aerial parts of *Potentilla species* and their anticariogenic activity. *Molecules*. 2010;15(7):4639–4651. <https://doi.org/10.3390/molecules15074639>.
15. Государственная фармакопея РФ [Электронный ресурс]. – М., 2015. – Т. 2. – Режим доступа: <http://www.femb.ru/feml>. Дата обращения 02.08.2020. [Gosudarstvennaya farmakopeya RF [Internet]. Available from: <http://www.femb.ru/feml>. Moscow, 2015. Vol. 2. (In Russ.)]
16. Курбатский В.И. Определитель видов рода *Potentilla* L. (лапчатка) Азиатской России. – Томск, 2016. [Kurbatskij VI. Opredelitel' vidov roda *Potentilla* L. (lapchatka) Aziatskoj Rossii. Tomsk; 2016. (In Russ.)]
17. Dhvani T Dave, Gaurang B Shah. Pharmacological potential of naturally occurring nonstarch polysaccharides (NSP). *The Journal of Phytopharmacology*. 2015;4(6):307–310.
18. Liun J, Willfor S, Xun SC. A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*. 2015;5(1):31–61.
19. Yua Y, Shena M, Songa Q, Xiea J. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. *Carbohydr Polym*. 2018;183:91–101. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.009>.

■ Информация об авторах

Екатерина Сергеевна Тютрина — ассистент кафедры фармацевтической технологии и фармакогнозии с курсом ПО. ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск. E-mail: katrintut@bk.ru.

■ Information about the authors

Ekaterina S. Tyutrina — Teaching assistant, Department of Pharmaceutical Technology and Pharmacognosy with the course of PE. Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia. E-mail: katrintut@bk.ru.

■ Информация об авторах

Елена Евгеньевна Савельева — кандидат фармацевтических наук, заведующая кафедрой фармацевтической технологии и фармакогнозии с курсом ПО. ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск. E-mail: saveleva_ee@mail.ru.

Владимир Иванович Курбатский — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Гербария им. П.Н. Крылова. ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск. E-mail: celloc@sibmail.com.

■ Information about the authors

Elena E. Saveleva — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Head of the Department of Pharmaceutical Technology and Pharmacognosy with the course of PE. Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia. E-mail: saveleva_ee@mail.ru.

Vladimir I. Kurbatsky — Candidate of Biological Sciences, Senior Scientific Worker of Tomsk State University Herbarium named after P.N. Krylov. National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia. E-mail: celloc@sibmail.com.