

Н. К. ЩЕРБУХИНА, В. Л. КИРИЛЛИНА, В. Д. ЩЕРБУХИН

О ВОДОРАСТВОРИМОМ ПОЛИСАХАРИДЕ EREMURUS COMOSUS

(Представлено академиком А. И. Опариным 13 V 1971)

Eremurus comosus (эремурус хохлатый) O. Fedtsch, сем. Liliaceae — растение, широко распространенное в среднем горном поясе Западного Памиро-Алая (¹). Как было показано в 1965 г., клубнекорни *E. comosus* содержат значительное количество водорастворимого полисахарида, по-видимому, близкого по строению к глюкоманнанам *E. Regeli*, *E. fuscus* и *E. hissaricus* (²⁻⁵). Учитывая теоретическое и практическое значение глюкоманнанов (⁶), представлялось интересным более подробно изучить полисахарид запасующих органов *E. comosus*.

Полисахарид выделяли из молодых клубнекорней, собранных в ущелье Варзоб ТаджССР в период плодоношения растений. Выход полисахарида 39% от воздушно-сухого веса сырья. Указанный исходный полисахарид подвергали дополнительной очистке через медный комплекс. Выход очищенного полисахарида составлял 88% от исходного. Исходный полисахарид *E. comosus* являлся аморфным порошком, растворимым в воде (40 мг/мл) и нерастворимым в 0,1*N* NaOH. Препараты практически не содержали азота (определение по Кельдалю). Растворы полисахарида не давали окрашивания с иодом и имели левое вращение $[\alpha]_D^{22} = -39,6^\circ$ (*C* 0,45%, вода).

Таблица 1

Величины вязкости исходного полисахарида при различных концентрациях (*C*)

<i>C</i> , г/100 мл	Время истечения растворителя, сек.	Время истечения раствора, сек.	Величины вязкости		
			$\eta_{\text{отн}} = \frac{\eta'}{\eta}$	$\eta_{\text{уд}} = \frac{\eta' - \eta}{\eta}$	$\eta_{\text{прив}} = \frac{\eta_{\text{уд}}}{C}$
0,5	45	160,0	3,66	2,55	5,1
0,4	45	128,0	2,71	1,84	4,6
0,3	45	100,2	2,21	1,21	4,0
0,2	45	75,7	1,68	0,68	3,4
0,1	45	59,2	1,31	0,31	3,1

Растворы полисахарида обладали значительной вязкостью (табл. 1), превосходящей вязкость растворов эремурана и «сале-п-маннана». Так $\eta_{\text{отн}}$ полисахарида *E. comosus* при концентрации 0,5 г/100 мл в 2 раза превышает $\eta_{\text{отн}}$ эремурана ($\eta_{\text{отн}} = 1,78$) и в 1,5 раза $\eta_{\text{отн}}$ «сале-п-глюкоманнана» ($\eta_{\text{отн}} = 2,52$) (³).

Из литературных данных известно, что результаты вискозиметрии могут дать известную информацию о форме молекул (⁷). Значительные величины вязкости растворов изучаемого полисахарида при низких концентрациях, сильное изменение $\eta_{\text{прив}}$ при довольно малых изменениях концентраций (в пределах 0,1—0,5 г на 100 мл), а также высокое значение характеристической вязкости $[\eta] = 2,6$ свидетельствуют в пользу скорее фибриллярного, линейного строения молекул полисахарида *E. comosus*.

Очистка исходного полисахарида через медный комплекс, как и в случае глюкоманнанов *E. fuscus* и *E. hissaricus* (^{4, 5}), приводила к потере

растворимости в воде, что делало невозможным проведение на очищенных препаратах ряда анализов, требующих растворимости (вискозиметрия, поляриметрия и др.).

Изучение моносахаридного состава исходного полисахарида показало, что он состоит из глюкозы и маннозы в отношении 1 : 3, 2 с незначительной примесью галактозы. Очищенный через медный комплекс полисахарид состоял из глюкозы и маннозы в том же соотношении. Сохранение количественного соотношения глюкозы и маннозы при очистке полисахарида свидетельствует в пользу гетерополисахаридной природы изучаемого полимера и позволяет предположить, что он является глюкоманнаном. Это предположение подтверждается также результатами хроматографического изучения продуктов частичного гидролиза полисахарида, обнаруживающими среди структурных фрагментов полимера гетеродисахариды, состоящие из глюкозы и маннозы. В целом полученные результаты оказались сходными с таковыми для «салеп-маннана» ⁽⁸⁾. На хроматограммах были обнаружены дисахариды, R_f которых совпадало с R_f 4-О-β-*D*-глюкопиранозил-*D*-маннопиранозы, 4-О-β-*D*-маннопиранозил-*D*-маннопиранозы, 4-О-β-*D*-маннопиранозил-*D*-глюкопиранозы, соответственно. При этом, как и в случае «салеп-маннана», не удалось обнаружить целлобиозы, что наводит на мысль о полном отсутствии в полисахариде или наличии в нем лишь незначительных количеств непосредственно связанных между собой глюкозных остатков. Химическая идентификация указанных выше гетеродисахаридов в случае подтверждения результатов хроматографического анализа послужила бы окончательным доказательством глюкоманнановой природы изучаемого полисахарида.

Сопровождающий глюкоманнан полисахарид или полисахариды (выход 1,5 %) состояли в основном из галактозы, значительно меньших количеств глюкозы и маннозы и следовых количеств ксилозы и арабинозы.

И.-к. спектры исходного и очищенного полисахарида из клубнекорней *E. comosus* были очень близки между собой и имели поглощение при 894 см^{-1} (при отсутствии поглощения в интервале $840 \pm 10\text{ см}^{-1}$), свидетельствующее о наличии β-гликозидных связей; 874 см^{-1} , говорящее о наличии маннопиранозных остатков, и 812 см^{-1} , характеризующее присутствие гексопираноз ⁽⁹⁾. В целом описанные спектры были близки таковым эренурана и глюкоманнанов *E. fuscus* и *E. hissaricus* ^(4, 5), что в совокупности с химическими характеристиками позволяет говорить о структурной близости всех указанных полисахаридов и о глюкоманнанной природе полисахарида из клубнекорней *E. comosus*.

Количественная оценка состава глюкоманнана *E. comosus* показала относительно высокое содержание в нем маннозы (около 80 %). Исходя из процентного содержания в клубнекорнях *E. comosus* полисахарида и соотношения в последнем моносахаридов, нетрудно рассчитать, что 100 г сырья содержат около 30 г маннозы. Нами была предпринята попытка выделить из гидролизата муки клубнекорней *E. comosus* маннозу в виде ее анилинового производного ⁽¹⁰⁾. В результате из 100 г муки удалось выделить 25,6 г перекристаллизованного *N*-фенил-*D*-маннозиламина, что составляет 61 % от теоретически возможного. Температура плавления препарата $180\text{--}181^\circ$; смешанные пробы не давали депрессии; и.-к. спектр полученного препарата соответствовал таковому стандартного образца. Таким образом, физико-химические характеристики свидетельствовали о том, что полученное вещество является чистым препаратом *N*-фенил-*D*-маннозил-амина. Чистая манноза из такого препарата, как было показано ранее ⁽¹⁰⁾, может быть выделена в количестве 73 % от теоретического.

Выделение полисахарида осуществлялось водной экстракцией муки сырья с последующим осаждением этанолом и пересаживанием из трихлоруксусной кислоты ^(4, 5). Дополнительная очистка полисахарида проводилась через медный комплекс с помощью раствора Фелинга. Полисахарид из медного комплекса регенерировался 80 % уксусной кислотой, как было

описано ранее (⁴, ⁵, ⁸). Определение оптической активности водных растворов полисахарида проводилось с помощью объективного поляриметра Bendix Ericson. Определение вязкости осуществляли с помощью капиллярного вискозиметра Освальда (объем 5 мл) при постоянной температуре 30°, поддерживаемой ультратермостатом. Концентрации исследуемых растворов указаны в табл. 1. Изучение структурных компонентов полисахарида проводилось при помощи качественной и количественной хроматографии, как описывалось ранее (⁴, ⁵, ⁸). Кроме того, оба моносахарида, входящие в состав глюкоманнана, были выделены в индивидуальном состоянии из гидролизатов полисахарида с помощью препаративной хроматографии на Ватмане 3ММ при использовании системы растворителей: ацетон — бутиловый спирт — вода (7:2:1), как описано ранее (⁸). Для идентификации *D*-глюкозы использовали глюкозооксидазный метод (¹¹). *D*-Маннозу переводили в *N*-фенил-*D*-маннозиламин, который характеризовали по температуре плавления и и.-к. спектрам (¹⁰). Обе характеристики полученного препарата соответствовали таковым стандартных образцов.

Частичный гидролиз полисахарида производился в 2,5% H₂SO₄ на кипящей водяной бане. Оптимальный срок гидролиза 1 час 20 мин. — 1 час 40 мин. После нейтрализации BaCO₃ гидролизаты подвергали хроматографическому изучению. При этом были использованы следующие стандартные образцы: 4-О-β-глюкопиранозил-*D*-маннопираноза, 4-О-β-маннопиранозил-*D*-глюкопираноза, 4-О-β-маннопиранозил-*D*-маннопираноза и целлюлоза. Препарат целлюлозы был коммерческим («Chemapol»), все остальные олигосахариды выделялись и идентифицировались, как описывалось ранее (⁴, ¹¹). И.-к. спектры «исходного» и очищенного через медный комплекс полисахаридов записывали на инфракрасном спектрофотометре UR-10 с призмой NaCl в области 700—2000 см⁻¹ при целевой программе 4 и скорости сканирования 50 см⁻¹/мин. Образцы для анализа готовили прессованием 0,7 мг полисахарида со 100 мг KBr. Спектры снимали сразу после приготовления пластинок.

Выделение маннозы из гидролизатов муки клубнекорней в виде *N*-фенил-*D*-маннозиламина и идентификация последнего по и.-к. спектрам и температуре плавления проводилась, как описано ранее (¹⁰).

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
13 V 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ П. Н. Овчинников, Флора Таджикской ССР, 2, 186 (1963). ² Е. М. Афанасьева, Н. К. Щербухина и др., Прикл. биохимия и микробиол., 1, 198 (1965).
- ³ Н. К. Щербухина, Б. Н. Степаненко, В. Д. Щербухин, Растительн. ресурсы, 5, 398 (1969). ⁴ Н. К. Щербухина, В. Л. Щербухин, Б. Н. Степаненко, Растительн. ресурсы, 6, 76 (1970). ⁵ Н. К. Щербухина, В. Д. Щербухин, Растительн. ресурсы, 6, 186 (1970). ⁶ Н. К. Щербухина, Усп. биол. хим., 11, 226 (1970). ⁷ Б. Иргенсон, Природные органические макромолекулы, М., 1965. ⁸ Б. Н. Степаненко, Н. К. Щербухина, Биохимия, 29, 41 (1964).
- ⁹ S. A. Barker, E. J. Bourne, D. H. Whiffen, Methods of Biochemical Analysis, 3, 213 (1956). ¹⁰ Б. Н. Степаненко, Н. К. Щербухина и др., Прикл. биохимия и микробиология, 2, 39 (1966). ¹¹ В. Д. Щербухин, Н. К. Щербухина, Прикл. биохим. и микробиол., 7, № 4, 484 (1971). ¹² В. Д. Щербухин, Н. К. Щербухина, В. Л. Кириллина, ДАН, 200, № 6, 207 (1971).