

УДК 543.6:615:577.1

ПРОГНОЗ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В СОКЕ ПОБЕГОВ ARCTIUM LAPPA L. МЕТОДОМ ИК ФУРЬЕ СПЕКТРОСКОПИИ

Беседин С.Н.

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный социально-педагогический университет»
Министерства науки и образования России, Волгоград, e-mail: sergei_forsag@mail.ru

Химический состав сока молодых побегов лопуха, который богат биологически активными веществами (БАВ), не изучен и представляет научный интерес, требующий дополнительных исследований. Растения этого семейства (*Compositae*) обладают противоопухолевой активностью и представляют ресурс разнообразных полисахаридов, аминокислот, флавоноидов и может служить перспективным сырьем для применения в различных отраслях медицинской промышленности. Проведен анализ взаимосвязи химических соединений в соке молодых побегов лопуха и вещества, выделенного из водного экстракта его корней. Анализ ИК-спектра сока побегов лопуха и его сравнение со спектром вещества, ранее выделенного из экстракта корней лопуха, показал на наличие полос поглощения характерных для вещества β-аспарагин. Выявленные отличия в спектрах можно рассматривать как изменение химического состава вещества. Прогнозирование его количества в образцах на этапе исследования проводилось по содержанию основных групп Амид I (C=O)st с учетом коэффициента экстинкции на частоте максимального поглощения группы. Дополнительные отличия можно отнести к обнаружению полос поглощения фосфорной кислоты в фосфолипидах P=Ost и наложении деформационно-скелетных и скелетных колебаний групп δγCH₂ и γ(NH₂). Для уточнения возможных химических изменений целесообразно провести исследование чистого вещества, выделенного из водного экстракта молодых побегов лопуха, и его изучение методами физико-химического анализа, включая метод ЯМР.

Ключевые слова: инфракрасный спектр (ИК), биологически активные вещества (БАВ), молодые побеги лопуха, β-аспарагин, фосфолипиды

THE PROGNOSIS OF CHEMICAL COMPOUNDS IN THE JUICE OF THE SHOOTS ARCTIUM LAPPA L. BY THE METHOD OF IR FOURIER SPECTROSCOPIE

Besedin S.N.

*Volgograd State Socio-Pedagogical University of the Ministry of Science and Education of Russia,
Volgograd, e-mail: sergei_forsag@mail.ru*

The chemical composition of young burdock shoots juice, which is rich in biologically active substances (BAS), has not been studied and is of scientific interest requiring additional research. Plants of this family (*Compositae*) possess antitumor activity and represent a resource of various polysaccharides, amino acids, flavonoids, and can serve as a promising raw material for use in various branches of the medical industry. The analysis of the relationship of chemical compounds in the juice of young shoots of burdock and the substance extracted from the aqueous extract of its roots. Analysis of the infrared spectrum of burdock juice sap and its comparison with the spectrum of the substance of burdock previously isolated from the root extract showed the presence of absorption bands characteristic of the substance β – asparagine. The revealed differences in the spectra can be considered as a change in the chemical composition of the substance. Prediction of its quantity in the samples at the research stage was carried out on the content of the main Amide I (C = O) st groups, taking into account the extinction coefficient at the frequency of the maximum absorption of the group. Additional differences can be attributed to the detection of phosphoric acid absorption bands in the P = Ost phospholipids and the imposition of deformation-skeletal and skeletal vibrations of the δγCH₂ and groups γ(NH₂) from an aqueous extract of young burdock shoots and its study by the methods of physicochemical analysis, including the NMR method.

Keywords: infrared spectrum (IR), biologically active substances (BAS), young shoots of burdock, β-asparagine, phospholipids

В настоящее время в терапии многих заболеваний активно применяются препараты на основе биологически активных веществ (БАВ) лекарственного происхождения. При этом актуальность применения БАВ в медицинской практике с каждым годом возрастает. Лекарственные средства растительного происхождения на основе корней лопуха находят широкое применение в онкологической практике [1]. Химический состав сока молодых побегов лопуха, который богат БАВ, не изучен и представляет научный интерес, требующий дополнительных

исследований. Растения этого семейства (*Compositae*) обладают противоопухолевой активностью и представляют ресурс разнообразных полисахаридов, аминокислот, флавоноидов и других веществ и могут служить перспективным сырьем для применения в различных отраслях медицинской промышленности. В связи с этим представляет интерес идентификация веществ, входящих в сок молодых побегов лопуха, и их сравнения с химическим веществом, выделенным ранее из водного экстракта корней лопуха [1].

Цель исследования: изучение и прогноз химических соединений сока молодых побегов лопуха и сравнительный анализ с веществом β -аспарагин, выделенного из корней лопуха, методом ИКФурье-спектроскопии.

Материалы и методы исследования

Объект исследования – молодые побеги лопуха *Arctium Lappa L. (Lappa major Gaertn.)* семейства сложноцветных. Исследуемый вид встречается в регионе Нижнего Поволжья среди кустарников по всей степной и лесостепной зоне. Сбор растений для анализа производился в мае в период активного формирования стеблей до начала цветения. Учитывая недостаточную изученность химических элементов, входящих в его состав, который богат биологически активными веществами, а также сложный и многокомпонентный состав органических соединений, входящих в сырье, исследование проводилось в расширенном диапазоне инфракрасного спектра от 400 до 4000 см^{-1} .

Для решения этой задачи в качестве инструментария исследования использовался Фурье ИК-спектрофотометр PerkinElmer, гидравлический пресс для таблетирования образцов. Количество исследуемого образца в таблетке КВг составляло $\sim 0,0008$ г. В целях повышения достоверности исследований при подготовке образцов к таблетированию применялась сублимационная сушка экстрактов в чашках Петри в течение 3 суток с предварительной заморозкой до 80 град. Цельсия на установке FDU – 2100.

Результаты исследования и их обсуждение

На рис. 1 представлены ИК-спектры образцов сока молодых побегов *Arctium Lappa L.* ИК-спектральный анализ показал, что исследуемые образцы 1 и 2 имеют полосы поглощения, которые характеризуют химический состав растения: углеводы, белки, жиры [2].

Сравнение ИК-спектров образцов, очищенных центрифугой и без нее, показывает на относительную идентичность полос поглощения на всех характерных частотах, что говорит о незначительном влиянии дисперсных фракций, выделенных из сока молодых побегов лопуха, на спектральную картину поглощения и не окажет существенного влияния на качество идентификации химических соединений, входящих в состав исследуемых образцов. Однако наблюдаются отличия в оптической плотности образцов, о чем говорит разница в интенсивности поглощения на частотах менее ~ 1468 см^{-1} .

В этом случае разница интенсивности поглощения образцов достигает максимальных значений 5–7%. Отличия интенсивности поглощения в области больших частот (более ~ 1500 см^{-1}) минимальны (составляют порядка 1–2%) и относятся к области поглощения в которой проявляются валентные колебания ряда функциональных групп. В большую разницу в интенсивностях поглощения образцов на частотах менее ~ 1500 см^{-1} попадают области скелетно-деформационных колебаний ряда функциональных групп, которая, по всей вероятности, связана с вкладом дисперсных фракций таких органических веществ, как лигнинов.

Так, например, валентные колебания групп на ОН и CH_2 на частотах ~ 3400 и ~ 2925 см^{-1} соответственно, показывают на наличие углеводов в растительном сырье [2, 3]. Для белков характерна полоса в области частот близкой к 3300 см^{-1} , которая обусловлена колебанием группы NH и принимает участие в образовании водородной связи.

Картина дополняется полосами Амид I и Амид II в области частот 1600–1500 см^{-1} , которая связана с природой аминокислот. У большинства полипептидов и белков имеются полосы амид I и амид II которые поглощаются в области 1650 и 1550 см^{-1} , но могут встречаться и отличия, которые могут вносить изменения в спектр с учетом образования водородных связей.

Таким исключением могут быть циклические пептиды, которые поглощаются на частотах близких к ~ 1610 и ~ 1513 см^{-1} . А для полосы амид II на частотах ~ 1527 и 1550 см^{-1} [3]. Область 1500–1700 см^{-1} содержит ряд интенсивных полос, отнесенных к Амид I, Амид II, Амид III. О наличии пептидов говорят поглощения в полосах, характерных для Амид I и Амид II, которые подтверждаются валентными колебаниями связи $\text{C}=\text{O}$ (Амид I) и плоскостными деформационными колебаниями связи NH (Амид II) [2].

Исследуя положение этих полос в спектре, можно получить сведения о молекулярной форме, с определенной степенью достоверности осуществить идентификацию молекулярного соединения, но необходимо учитывать что в твердой форме вещества на поглощение могут влиять и другие факторы (например, температура). Поэтому идентификация полосы Амид II у белков и пептидов носит затруднительный характер по причине наличия в этой области спектра полосы поглощения колебаниями ионизированной карбоксильной группы.

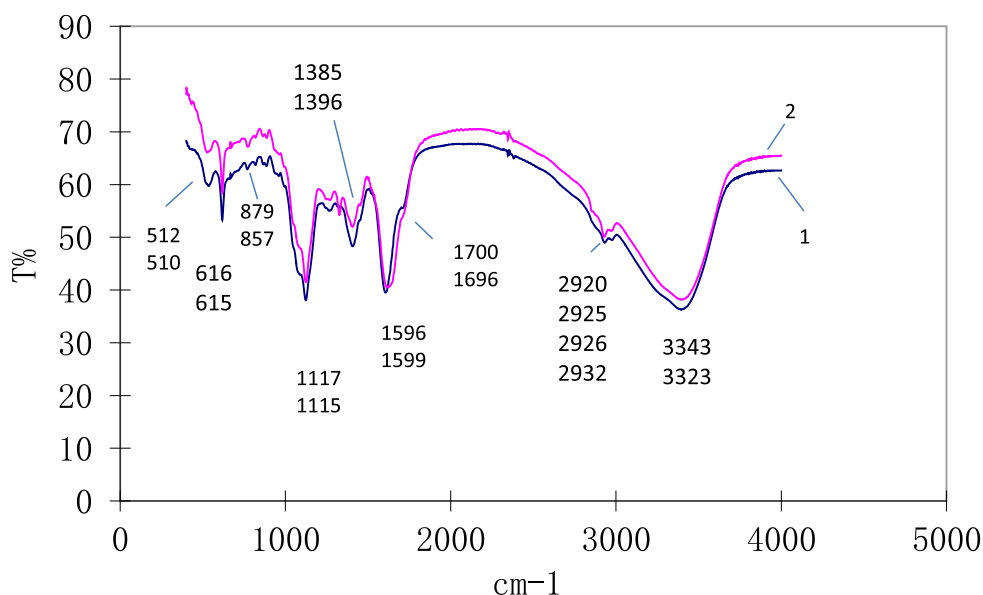


Рис. 1. ИК-спектр сока побегов лопуха (образец 1 – очищенный центрифугой; образец 2 – без центрифуги)

Сравнение отнесений полос поглощения исследуемых образцов с полосами поглощения вещества β-аспарагин (рис. 1, спектры 1, 2)

Положение полосы, см ⁻¹			Отнесения	Источник
Образец 1	Образец 2	β-аспарагин [1]		
3343	3323	3382	(N-H)st	[1, 2]
2925	2926	–	(CH ₂)st	[2]
2932	2933	–	(CH _n –)st	[2]
2926	2920	3111	(NH)st	[1, 2]
1596	1599	1682	Амид I (C=O)st	[1, 2]
1700	1696	1644	Амид II (NH)δ	[1, 2]
1396	1385	1429	Амид III (N-H)δ	[1, 2]
1117	1115	–	Валентные колебания P=Ost группы фосфорной кислоты в фосфолипидах R(RO)PO ₂ на частотах 1110–1050 см ⁻¹	[3]
879	857	–	Валентные колебания P=Ost в фосфолипидах в интервале 875–855 см ⁻¹	[3]
768	711	–	δCH ₂ деформационно-скелетные колебания группы	[3, 5]
616	615	669	δ(N-H) группы NH ₂ C=O	[1, 3]
512	510	–	скелетное колебания группы ~γ(NH ₂)	[5]

Примечание: st – валентные колебания, δ – деформационные колебания, stas – валентно-асимметричные колебания, δ – деформационно-скелетные колебания, ip – плоскостные колебания, γ – скелетные колебания молекулы.

Кроме того надо учитывать, что у многих белков полоса амид II частично перекрывается полосой поглощения ионизированной карбоксильной группы. Поэтому идентификация частот поглощения в этой группе весьма проблематична. По этим по-

лосам поглощения можно судить о наличии белков, которым соответствуют полосы поглощения на частотах близких к ~1600 см⁻¹ (1596, 1599) (Амид I); ~1700 см⁻¹ (1700, 1696) (Амид II); ~1400 см⁻¹ (1396, 1395) (Амид III) (таблица) [2; 9].

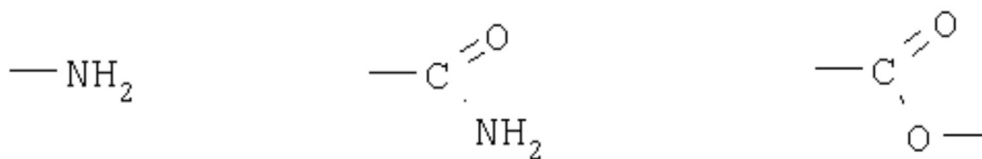


Рис. 2. Функциональные группы вещества β -аспарагина [1]

На частотах близких к $\approx 1150 \text{ см}^{-1}$ проявляются валентные колебания $\text{P}=\text{O}$ фосфорной кислоты, входящей в состав фосфолипидов, также деформационно-плоскостные колебания амидной группы $\text{NH}\delta\text{ip NH}_2\text{C}=\text{O}$ (1117 и 1115 см^{-1}) [3]. О присутствии небелковых молекул в виде фосфолипидов говорят поглощения на частотах, которые характерны для фосфорной кислоты в виде валентных колебаний на частотах $\text{P}=\text{O}$ ($1110\text{--}1050 \text{ см}^{-1}$) и $\text{P}-\text{O}$ ($879\text{--}835 \text{ см}^{-1}$) [3] на наличие липидной группы жирных кислот в образцах указывает поглощение группы CH_2 в полосе $3010\text{--}2853 \text{ см}^{-1}$ на частоте 2932 см^{-1} [2].

Полосы поглощения в группах $(\text{N}-\text{H})_{\text{st}}$ и $(\text{CH}_n)_{\text{st}}$, которые характерны амидам и липидам, близки и совпадают [3]. Поглощения на частотах $616, 615 \text{ см}^{-1}$ относятся к группе $\text{NH}_2\text{C}=\text{O}$ [3] и свойственны амидо-карбонильным соединениям, в виде дополнительных поглощений с деформационно-плоскостными колебаниями $\text{NH}\delta\text{ip}$ в молекуле вещества. В ИК-спектре (рис. 2, 3) присутствуют полосы поглощения, которые подтверждают наличие следующих функциональных групп, которые характерны для вещества β -аспарагин.

Валентные колебания связи $\text{N}-\text{H}$ в первичных аминах проявляются на частотах $3343, 3323 \text{ см}^{-1}$. Валентные колебания амидной группы NH наблюдаются на частотах 2932 и 2920 см^{-1} , а ее деформационные колебания на частотах 1700 и 1696 см^{-1} (полоса Амид II). Что характерно для первичных амидов, вторая область проявления этих колебаний находится в полосе меньших частот 1396 и 1385 см^{-1} (таблица, спектры 1 и 2). Валентные колебания карбонильной группы ($\text{C}=\text{O}$) амидов обнаружены на частотах $1596, 1599 \text{ см}^{-1}$ {полоса Амид I($\text{C}=\text{O}$)st}. Концентрацию карбонильных групп на этих частотах с учетом коэффициента экстинкции можно определить по методу, изложенному в монографии, которая в образцах 1 и 2 составила $1,16 \cdot 10^{-3}$ и $1,08 \cdot 10^{-3}$ моль/см соответственно [4, 5].

Такой подход позволит прогнозировать концентрацию вещества в образцах полученных как из корней лопуха, так и из его молодых побегов. Таким образом, область частот $1500\text{--}1700 \text{ см}^{-1}$ содержит ряд интенсивных полос, которые можно отнести к полосам Амид I, II, III. Уширенная полоса на максимальных частотах поглощения $616, 615 \text{ см}^{-1}$ соответствует деформационным колебаниям связи $\text{N}-\text{H}$ в аминах.

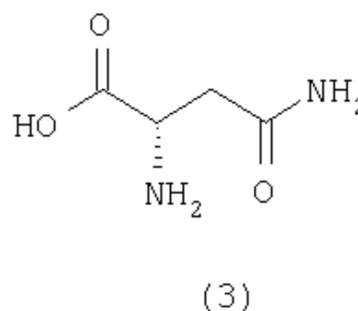


Рис. 3. Химическое соединение β -аспарагин [1]

Сравнение полос поглощения в спектрах образцов 1 и 2 (рис. 1) со спектром вещества β -аспарагина выделенного из корней лопуха позволяет сделать предположение, что это химическое соединение с высокой достоверностью содержится в соке молодых побегов лопуха. Отличия в виде сдвигов максимумов поглощения на $40\text{--}50 \text{ см}^{-1}$ в сторону меньших частот поглощения, а в области деформационных колебаний аминогруппы NH на 185 см , а также появление дополнительного поглощения в области деформационных колебаний на частоте $\approx 527 \text{ см}^{-1}$, могут быть связаны с наложением крутильных, плоскостных и скелетно-деформационных колебаний молекулы вещества [6]. Что может указывать на изменение химического состава вещества.

Скелетные колебания в области низких частот поглощения проявляются у вторичных амидов на частотах около $\sim 600 \text{ см}^{-1}$. Для белков и вторичных амидов характер-

ной является размытая полоса поглощения в виде внеплоскостных деформационных колебаний группы NH с максимумом около $\sim 700 \text{ см}^{-1}$.

Выводы

С помощью метода ИК Фурье-спектроскопии впервые изучен состав сока молодых побегов лопуха, произрастающего в регионе Нижнего Поволжья, и удалось осуществить прогнозирование органических веществ, входящих в его состав. Анализ результатов показал, что химический состав вещества с высокой степенью достоверности по своему химическому составу совпадает с веществом β -аспарагин. Наблюдаемые отличия в полученных спектрах можно рассматривать как изменение химического состава вещества. Прогнозирование количества вещества в образцах на этапе исследования может проводиться по содержанию концентраций групп Амид I(C=O)st с учетом коэффициента экстинкции [5] на частоте максимального поглощения этой группы. Для уточнения возможных химических изменений целесообразно провести выделение вещества из водного экстракта молодых побегов лопуха и его дополнительного изучения методами физико-химического анализа, включая метод ЯМР. Появление новых полос, отличающихся и дополняющих спектральную картину вещества на частотах $1117, 1115 \text{ см}^{-1}$ и $879, 857 \text{ см}^{-1}$, можно отнести к валентным колебаниям P=Ost группы фосфорной кислоты в фосфолипидах $R(RO)PO_2^-$ в интервалах $1110\text{--}1050 \text{ см}^{-1}$ и $875\text{--}855 \text{ см}^{-1}$. Поглощения на частотах $768, 711 \text{ см}^{-1}$ и $512, 510 \text{ см}^{-1}$ свойственны $\delta\gamma CH_2$ деформационно-скелетным и скелетным колебания групп $\sim\gamma(NH_2)$.

Список литературы / References

1. Боев Р.С. Химическое исследование корней лопуха как источника биологически активных веществ противоопухолевого действия: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Институт Химии нефти Сибирского отделения Российской академии наук. Томск, 2006. 30 с.

Boev R.S. Chemical research of roots of a burdock as source of biologically active agents of antineoplastic action: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk. Institut Ximii nefii Sibirskogo otdeleniya Rossijskoj akademii nauk. Tomsk, 2006. 30 p. (in Russian).

2. Ильяшенко Н.В., Оленева Ю.Г., Иванова А.И., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Влияние факторов окружающей среды на изменение химического состава в листовых пластинах биоиндикативных гидрофитированных растений после примера глубокого горновости // Современные проблемы науки и образования. 2012. № 2 [Электронный ресурс]. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=5714> (дата обращения: 11.12.2018).

Ilyashenko N.V., Oleneva Yu.G., Ivanova A.I., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. Influence of factors of the environment on change of the chemical composition in sheet plates of bioindikativny gidrofitsirovanny plants after an example deep gornovost // Modern problems of science and education. 2012. № 2 [Electronic resource]. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=5714> (дата обращения: 11.12.2018) (in Russian).

3. Преч Э., Бюльманн Ф., Аффольтер К. Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных / Пер. с англ. М.: Изд-во Мир, 2006. 439 с.

Prech E., Byulmann F., Affolter K. Definition of the structure of organic compounds. Tables of spectral data / Per. s angl. M.: Izd-vo Mir, 2006. 439 p. (in Russian).

4. Беседин С.Н. Прогноз молекулярных соединений и концентраций групп в растительном сырье верескового типа методом инфракрасной спектроскопии // Актуальные вопросы теории и практики биологического образования, материалы 11-й Всероссийской с международным участием научно-практической конференции посвященной году экологии в России, Волгоград, апрель 2017. М.: Планета, 2017. 544 с.

Besedin S.N. The forecast of molecular connections and concentration of groups in vegetable raw materials of heather type by method of infrared spectroscopy // Topical issues of the theory and practice of biological education, materials of the 11th the scientific and practical conference, All-Russian with the international participation, of the ecology devoted to year in Russia. Volgograd, aprel' 2017. M.: Planeta, 2017. 544 p. (in Russian).

5. Беседин С.Н. Молекулярная диагностика кризиса в энергонасыщенных помещениях. Основы, идентификация, подробный анализ, методы. Изд. LAP LAMBERT Academic Publishing. Saarbrucken, 2012. 292 с.

Besedin S.N. Molecular diagnostics of crisis in power saturated rooms. Bases, identification, detailed analysis, methods. Prod. LAP LAMBERT Academic Publishing. Saarbrucken, 2012. 292 p. (in Russian).

6. Справочник химика 21: Колебания молекул скелетные [Электронный ресурс]. URL: <http://chem21.info/info/100428> (дата обращения: 11.12.2018).

Reference book by the chemist 21: Skeletal molecular vibrations [Electronic resource]. URL: <http://chem21.info/info/100428> (date of access: 11.12.2018) (in Russian).