

ПОЛУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСОВ ПЕКТИНОВЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ С ДИКАРБОНОВЫМИ КИСЛОТАМИ

© 2010 г. С. Т. Минзанова, В. Ф. Миронов, А. Б. Выштакалюк, О. В. Цепаева,
А. З. Миндубаев, Л. Г. Миронова, А. Т. Губайдуллин, В. В. Зобов, А. В. Ланцова,
Г. Р. Петрова, Ф. Х. Зиатдинова, академик А. И. Коновалов

Поступило 01.06.2010 г.

Химическое модифицирование природных полимеров приводит к получению производных с новыми физико-химическими и биологическими свойствами [1, 2]. Кислые пектиновые полисахариды, в отличие от нейтральных полисахаридов, мало изучены в плане получения функциональных производных с сохранением макроцепи, поэтому исследование их химического модифицирования с учетом перспективы пектинов как растительного химического сырья – современная актуальная задача [3].

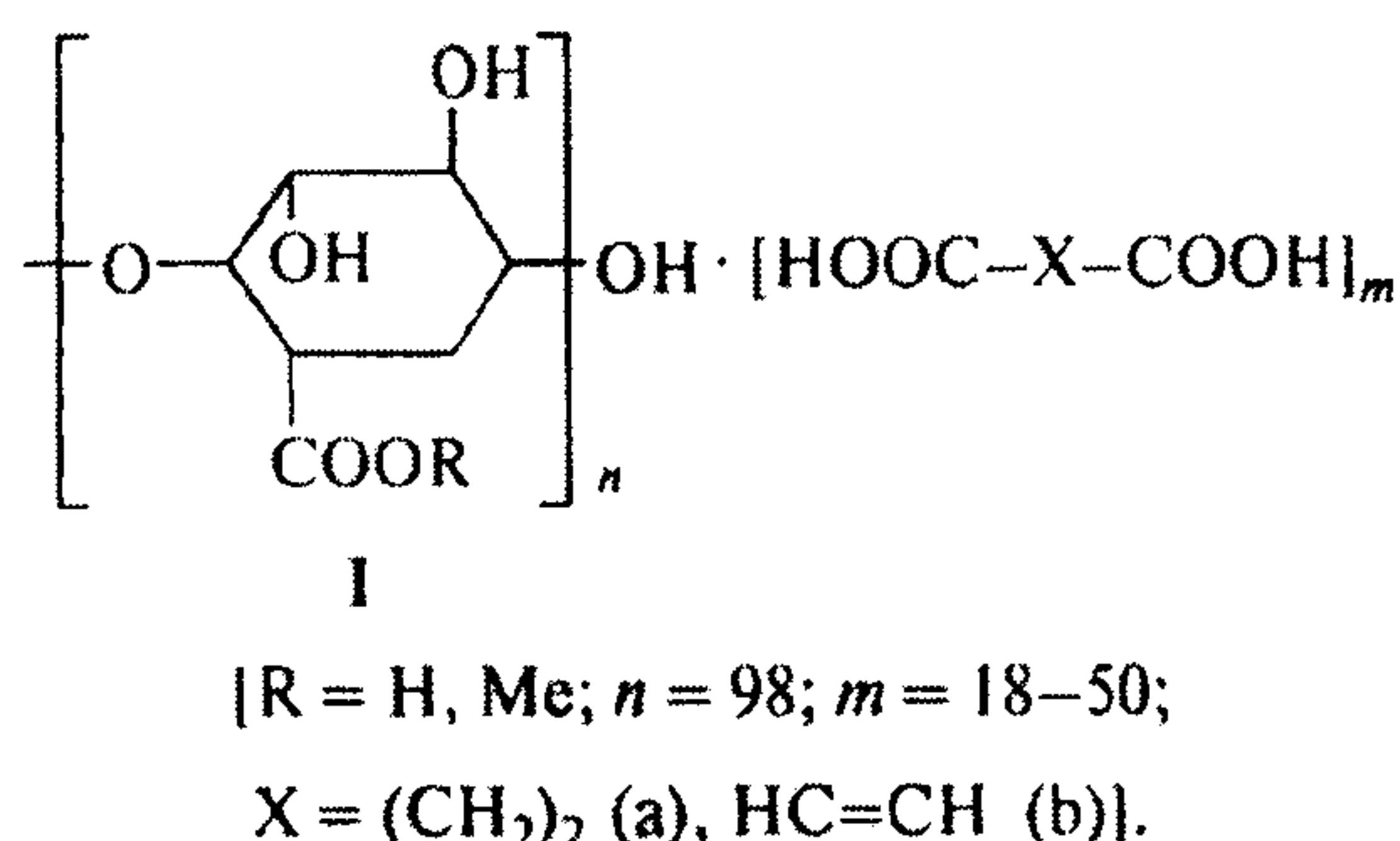
Пектиновые полисахариды в различных формах, лечебных препаратах и пищевых изделиях являются эффективным природным средством детоксикации организма от вредного воздействия радионуклидов, тяжелых металлов и других токсических веществ. Кроме радиопротекторного и гипохолестеринемического действия пектин угнетает гнилостную микрофлору кишечника и применяется как антибактериальное средство при лечении инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта. Важным в практическом отношении свойством пектиновых полисахаридов является способность их растворов к образованию студней, что широко применяют в молочной и кондитерской промышленности [4, 5]. Пектины все чаще используют в качестве вспомогательного средства при создании лекарственных форм. Многочисленные исследования отечественных и зарубежных авторов (см., например, [6]) посвящены взаимодействию действующих веществ с пектинами и их влиянию на фармакотерапевтическую активность первых. Так, при применении аспирина в смеси с пектинами снижается раздражающее действие препарата на желудочно-кишечный тракт [6]. Для пенициллина, тетрациклина и неомицина при их комбинации с пектинами показано потенцирующее и детоксическое действие пектиновых веществ [7]. В за-

патентованной авторами работы [8] фармацевтической композиции, обладающей противотуберкулезным действием, пектин снижает токсичность композиции и обеспечивает пролонгированный эффект.

Способность пектинов к комплексообразованию используют в медицинской практике для создания лекарственных препаратов пролонгированного действия, для повышения терапевтической активности, а также снижения их токсичности [9]. Можно ожидать, что сочетание пектиновых веществ с другими биологически активными добавками (БАД) расширит возможности использования пектина в пищевой и фармацевтической промышленности. Янтарная и фумаровая кислоты – важнейшие продукты и субстраты цикла трикарбоновых кислот [10]; они также являются известными БАД. Насыщенные и ненасыщенные дикарбоновые кислоты активизируют обменные процессы живых организмов, повышая их энергетические возможности и сопротивляемость к различным неблагоприятным воздействиям. Они поддерживают высокий уровень активности гидролитических и протеолитических ферментов, улучшают сохранность витаминов С, Р, РР. Это естественные продукты обмена веществ, обладающие повышенной биологической активностью. На основании проведенных токсико-гигиенических исследований ГК СЭН РФ разрешено использование янтарной (Е 363) и фумаровой (Е 297) кислот, а также их солей в качестве пищевых добавок в дозах, регламентируемых в технологических инструкциях по изготовлению пищевых продуктов и напитков. В отличие от многих стимулирующих препаратов эти кислоты не вызывают допингового эффекта, т.е. истощающего “подстегивания” какой-либо системы организма, а являются естественными метаболитами. Однако янтарная и фумаровая кислоты (ч. д. а.) при попадании в желудок могут вызывать раздражение слизистой оболочки. Можно было ожидать, что комплексы янтарной и фумаровой кислот с пектином, попадая в желудок, будут обра-

зовывать гель и растворяться постепенно, не образуя очагов с повышенной кислотностью.

В настоящей работе нами проведено исследование комплексообразования пектиновых полисахаридов с насыщенными и ненасыщенными дикарбоновыми кислотами и показано, что последние образуют молекулярные комплексы с пектином [11] формулы I.



При получении комплексов использовали пересаженный (из воды в этанол) цитрусовый пектин марки "Classic C-401" производства фирмы "Herbstreith & Fox" (Германия) со средней молекулярной массой 17 600 и степенью этерификации 68%.

Способ получения комплекса пектина с дикарбоновой кислотой включает: обработку нагревенного до 55–60°C водного раствора пектина раствором янтарной или фумаровой кислоты из расчета 0.1–0.8 г кислоты на 1 г пектина, выдерживание при перемешивании (55–60°C) в течение 0.5 ч и охлаждение. Далее из охлажденного раствора полученный комплекс (I) осаждают этиловым спиртом, высушивают и измельчают (схема 1). Остаточное содержание дикарбоновой кислоты в фугате после отгонки этанола на роторно-плунжерном испарителе определяют титриметрическим методом (схема 1).

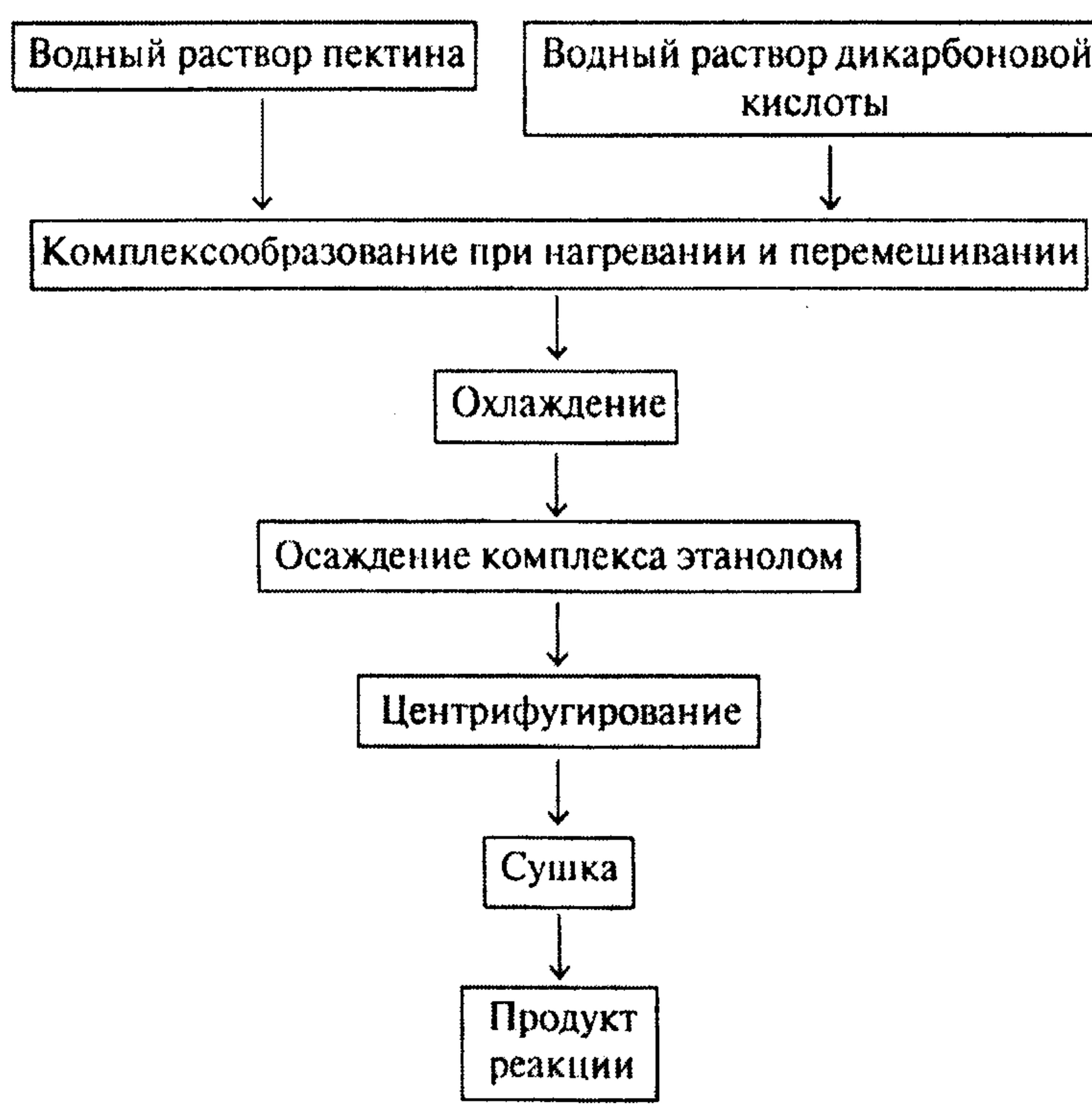


Схема 1

Нами изучена зависимость комплексообразования пектина с янтарной кислотой от температуры (рис. 1), с увеличением которой выход комплекса Ia увеличивается, достигая максимума при 50–60°C. Дальнейшее увеличение температуры не приводит к изменению выхода, т.е. указанная температура является оптимальной для комплексообразования.

Для определения количества дикарбоновой кислоты, которое связывается с пектином, проведена серия опытов с различным массовым соот-

ношением пектина и кислоты. При получении комплексов Ia в работе были использованы массовые соотношения пектин : янтарная кислота от значения 10 : 1 до значения 1.25 : 1. Полученные данные выражены графической зависимостью, представленной на рис. 2. Как видно из этого рисунка, количество янтарной кислоты, связанной с пектином, постепенно увеличивается, достигая максимума при соотношении пектина и янтарной кислоты 2 : 1, и далее не меняется независимо от увеличения количества кислоты. Таким образом, было определено максимальное количество

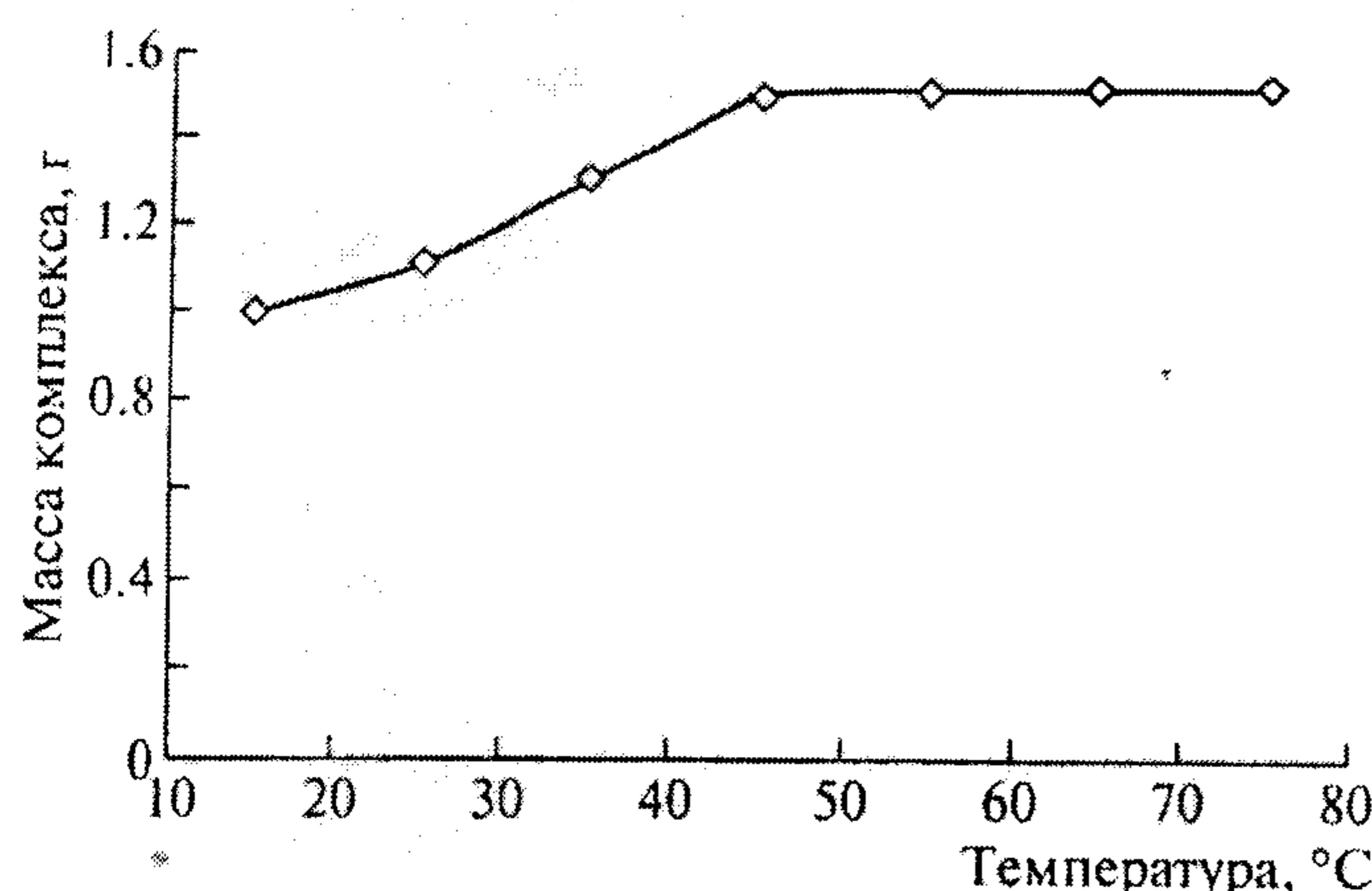


Рис. 1. Зависимость комплексообразования пектина с янтарной кислотой от температуры.

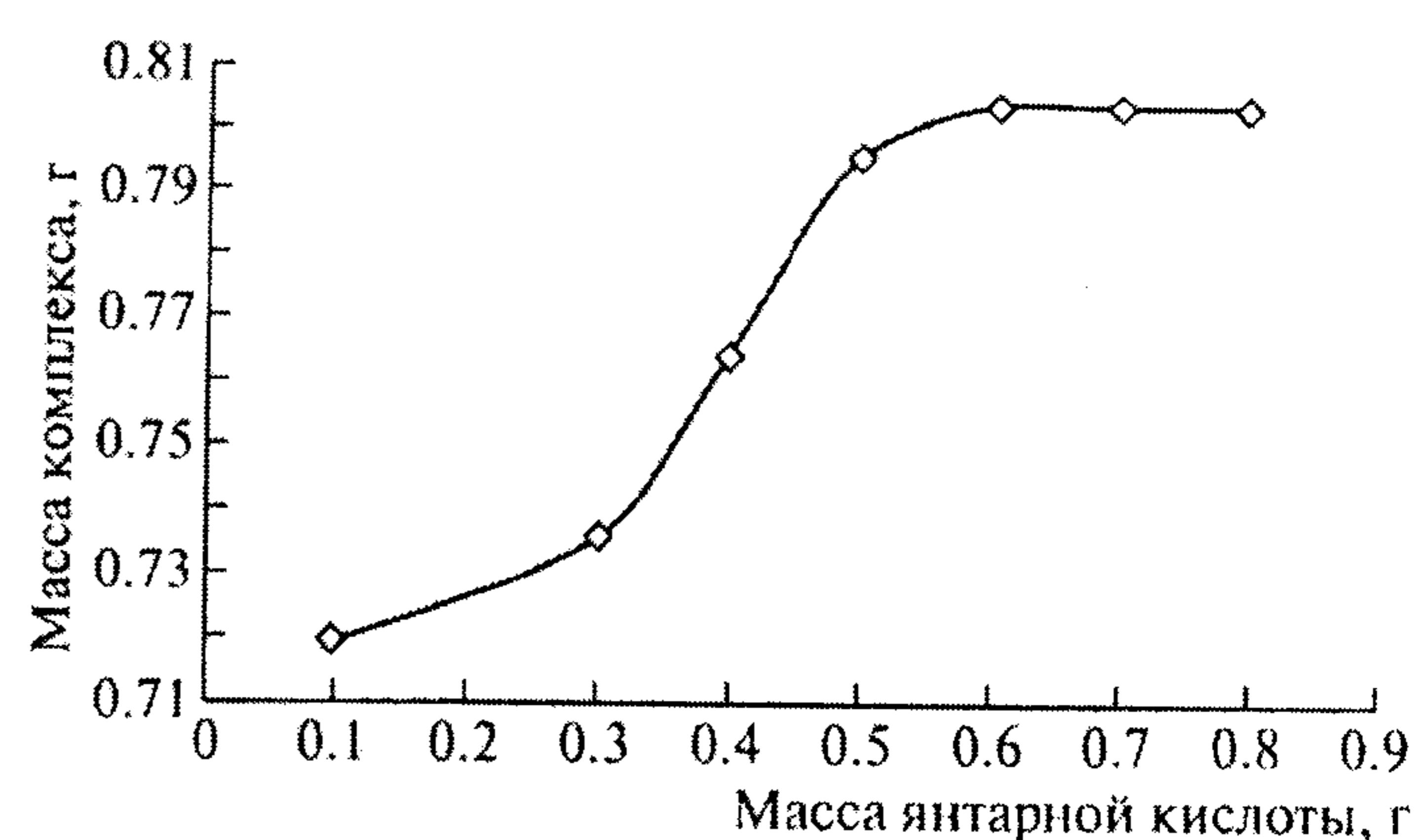


Рис. 2. Зависимость массы комплекса Ia от количества янтарной кислоты.

янтарной кислоты, которое связывается с пектином в молекулярный комплекс за счет образования водородных связей.

Для анализа состава образующегося комплекса I нами предложена методика, заключающаяся в разложении комплекса пектин – дикарбоновая кислота на составляющие (пектиновую и кислотную части) под действием щелочи при нагревании в течение 15 мин до появления слабощелочной реакции раствора (рН 7.5).

Из образовавшегося раствора пектат натрия осаждают этиловым спиртом, отделяют центрифугированием, высушивают и определяют массу. Из фильтрата концентрированием и сушкой получают натриевую соль дикарбоновой кислоты, по количеству которой рассчитывают содержание

дикарбоновой кислоты, связанной в комплекс I. Для комплекса Ia пересчет производили по формуле

$$\frac{m_1}{M_1} = \frac{m_2}{M_2},$$

где m_1 , m_2 – массы сукцинат-натрия и янтарной кислоты; M_1 , M_2 – молекулярные массы сукцинат-натрия и янтарной кислоты соответственно.

Для подтверждения факта комплексообразования пектина с янтарной кислотой, а не образования их механической смеси, было проведено сравнительное исследование структуры полученных комплексов (Ia) и исходных веществ методом порошковой дифракции на рентгеновском ди-

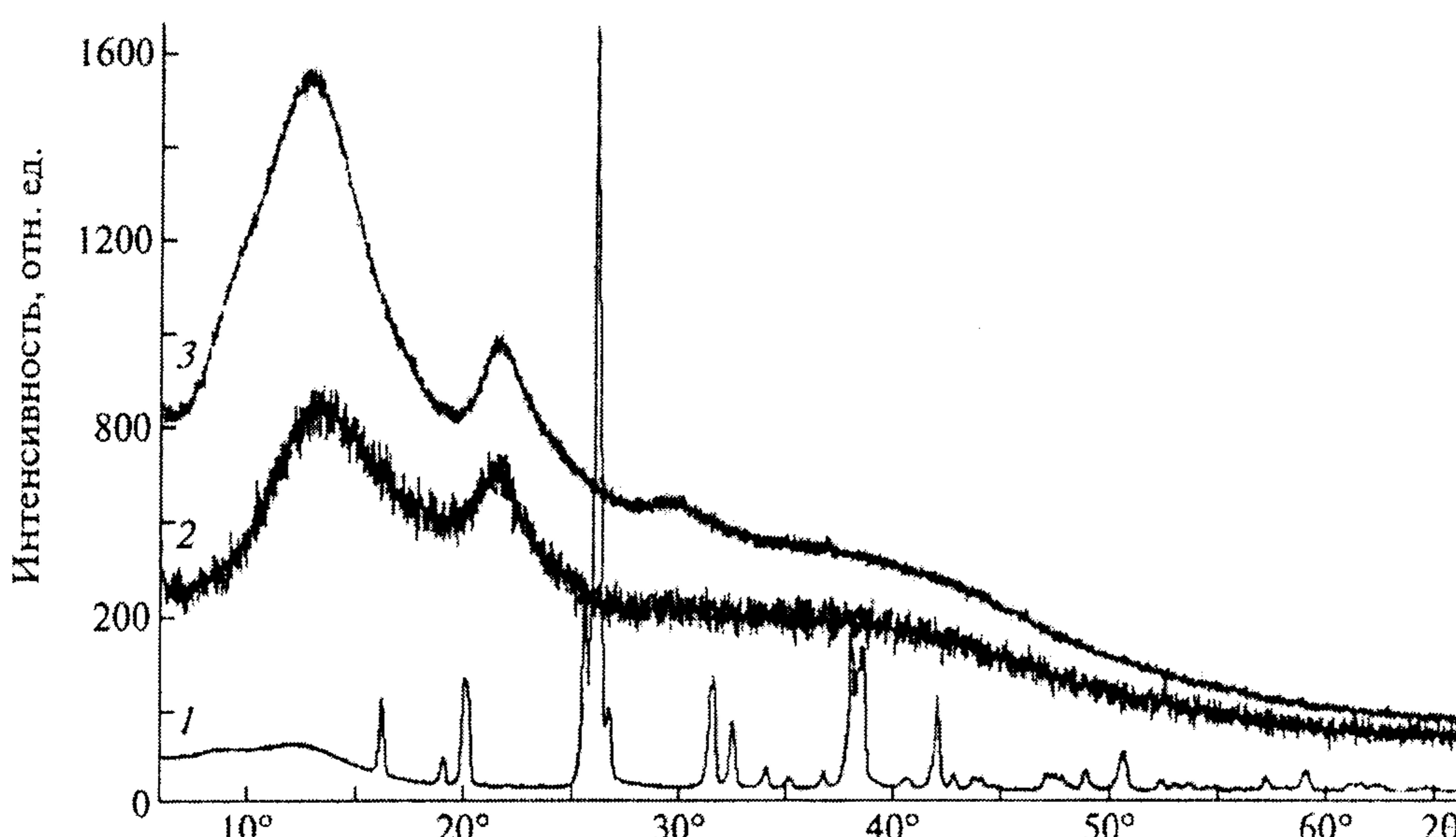


Рис. 3. Экспериментальные дифрактограммы исследованных образцов.
1 – янтарная кислота, 2 – комплекс Ia, 3 – пектин.

фрактометре D8 Advance (фирма "Bruker", Германия), рис. 3.

Для янтарной кислоты (ч. д. а.) на дифрактограмме характерно наличие соответствующих кристаллической фазе отчетливых интерференционных пиков; для исследуемого образца комплекса Ia наблюдаются аморфные уширенные пики, несколько отличающиеся по числу и положению от таковых для чистого пектина. При образовании механической смеси двух и более веществ на результирующей дифрактограмме должны наблюдаться интерференционные пики, соответствующие всем имеющимся компонентам. При этом чувствительность метода порошковой дифракции для обнаружения кристаллической фазы органических соединений находится в области концентраций от 0.5% и выше, а в исследуемых образцах комплексов присутствует более 10% дикарбоновой кислоты. Таким образом, анализ совокупности полученных данных свидетельствует о том, что модификация пектина янтарной кислотой приводит к гомогенному распределению янтарной кислоты в массе пектина и косвенно указывает на факт образования комплекса Ia.

Строение полученных комплексов подтверждено также данными ИК-спектроскопии. При сравнении ИК-спектров пектина и комплекса Ia в спектре комплекса наблюдается сдвиг полосы карбонильной группы ($C=O$) карбоксила пектинового полисахарида от значения 1745 до 1720 см^{-1} , что свидетельствует о наличии взаимодействия в системе пектин–янтарная кислота. Смещение полос, соответствующих валентным колебаниям гидроксильных групп $\nu(OH)$ в комплексах (Ia), в низкочастотную область от значения 3448 до 3430 см^{-1} объясняется участием этих групп в системе водородных связей. Мы полагаем, что комплексообразование происходит за счет таких связей между карбоксильными группами янтарной кислоты и карбоксильными и гидроксильными группами пектина. Аналогичные результаты получены и для комплекса пектин – фумаровая кислота.

Проведено исследование биологической активности комплексов Ia, b. На белых лабораторных мышах исследовали токсичность (LD_{50}) комплексов и их ульцерогенное действие на слизистую оболочку желудка. Показатели биологической активности комплексов сравнивали с соответствующими показателями для свободных янтарной и фумаровой кислот в эквимольных дозах. Были получены следующие результаты.

1. Токсичность. Установлено, что для янтарной кислоты LD_{50} 1500 мг/кг, для фумаровой – 1000 мг/кг. В эквимольных дозах, соответствующих тем же дозам органических кислот, с учетом их содержания в комплексах (24.5–25%), исследованные

комpleксы пектиновых полисахаридов (Ia, b) [комплекс Ia, 6000 мг/кг; комплекс Ib, 4000 мг/кг] не проявляли токсичности на лабораторных мышах.

2. Ульцерогенное действие – повреждающее влияние на слизистую желудочно-кишечного тракта. У животных после введения кислот (1500 мг/кг янтарной и 1000 мг/кг фумаровой) на слизистой желудка наблюдали признаки раздражающего влияния вводимых веществ, проявляющиеся в появлении гиперемии, точечных кровоизлияний, а в отдельных случаях – эрозий. У животных после введения комплексов Ia, b (6000 мг/кг) отсутствовали признаки раздражающего воздействия на слизистую, лишь в единичных случаях наблюдали отдельные точечные кровоизлияния и отечность слизистой. Согласно полученным результатам, комплексообразование дикарбоновых кислот – янтарной и фумаровой – с пектиновыми полисахаридами приводит к четкому снижению их токсического действия на организм и их раздражающего влияния на слизистую желудочно-кишечного тракта. Следовательно, можно полагать, что в полученных нами комплексах пектин – дикарбоновая кислота (I) присутствует синергизм свойств исходных компонентов.

Для определения пищевой ценности полученных нами комплексов пектина с дикарбоновой кислотой в соответствии с ГОСТ 24230-80 определена переваримость *in vitro*.

Таким образом, изучены температурная и концентрационная зависимости комплексообразования пектинов с дикарбоновыми кислотами, разработаны способы получения в технологических целях и методики анализа комплексов, показано снижение токсичности и уменьшение ульцерогенного действия кислот в составе комплексов на слизистую желудочно-кишечного тракта.

Работа поддержана ОХНМ РАН (программа № 5).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев Ю.Е., Гарновский А.Д., Жданов Ю.А. // Успехи химии. 1998. Т. 67. С. 723–744.
2. Криц Е.Е., Волченкова И.И., Бударин Л.И. // Координат. химия. 1990. Т. 6. В. 1. С. 11–21.
3. Ашубаева З.Д. Химические реакции пектиновых веществ. Фрунзе, 1984. 186 с.
4. Seymour G.B., Knox J.P. Pectins and their Manipulation. N. Y.: CRC Press, 2002. 250 p.
5. Донченко Л.В., Фирсов Г.Г. Пектин: основные свойства, производство и применение. М.: Дели, 2007. 276 с.