547.317:543.429.23

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2019.3.3

ГИДРОЛИЗ ИНУЛИНА В ПРИСУТСТВИИ ЙОДА

© К. И. Муллагильдина¹, С. П. Иванов^{2*}, И. Г. Конкина²,
А. Н. Лобов², Л. А. Даутова³, В. Н. Козлов⁴, Р. Р. Максютюв⁴,
Ю. И. Муринов², И. С. Файзрахманов¹

¹Башкирский государственный университет
Россия, Республика Башкортостан, 450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.

²Уфимский институт химии УФИЦ РАН
Россия, Республика Башкортостан, 450054 г. Уфа, пр. Октября, 71.

³Башкирский государственный медицинский университет
Россия, Республика Башкортостан, 450008 г. Уфа, ул. Ленина, 3.

⁴Московский государственный университет технологий и управления
им. К. Г. Разумовского (Первый казачий университет)»
Башкирский институт технологий и управления (филиал)
Россия, Республика Башкортостан, 453850 г. Мелеуз, ул. Смоленская, 34.

Тел.: +7 (347) 235 60 96.

*Email: ivanov_sp@anrb.ru

Методом ¹³C ЯМР спектроскопии показано, что в водно-спиртовых растворах в присутствии молекулярного йода происходит гидролиз инулина с образованием смеси α - и β -изомеров D-глюкозы и D-фруктозы.

Ключевые слова: инулин, йод, гидролиз, ¹³C ЯМР спектроскопия.

Благодаря уникальному сочетанию технологических и функциональных характеристик с терапевтическим действием и доступностью сырья широко распространенный растительный полисахарид инулин (**In**) привлекает внимание тысяч исследователей [1]. Термин «инулин» применяется для обозначения линейных фруктанов природного происхождения, химически представляющих собой полидисперсный углеводный материал, состоящий практически полностью из (2→1) связанных β -D-фруктозильных остатков ($n = 2-60$), с концевой группой (1↔2) α -D-глюкозы [2].

In является одним из функциональных пищевых ингредиентов, который снижает риск развития диабета и злокачественных заболеваний, влияет на метаболизм липидов, тормозит развитие остеопороза, увеличивая абсорбцию кальция и магния. По-

этому широкое использование инулина для замещения сахара, жира и муки в пищевых продуктах способствует оздоровлению организма человека [1].

Особенности ферментации делают использование как нативного, так и химически модифицированного **In** весьма привлекательным в качестве средства для доставки фармаконов, в т.ч. таргетной, в организм человека [3]. Гидролиз **In** позволяет получать ценные продукты для пищевой, фармацевтической и химической промышленности, в частности, смеси функциональных пребиотических фруктоолигосахаридов [4]. Данный аспект исследования является чрезвычайно важным также и для определения диапазона стабильности поли- и олигосахаридов [5].

В связи с перечисленными обстоятельствами всестороннее исследование данного продукта представляется весьма актуальным.

Ранее нами были синтезированы соединения йода с макромолекулами образца инулина из *Helianthus tuberosus* (степень полимеризации 8 [4]), с целью реализации доставки данного эссенциального микроэлемента в организм человека в составе пищевых продуктов [5]. Исследования *in vivo* на модели гипотиреоза показали их высокую эффективность. Синтезированные соединения представляют собой межмолекулярные ассоциаты, в которых йод в виде трийодид-ионов связан с атомами кислорода макромолекул инулина [6].

В ходе исследований было выяснено, что изменение условий взаимодействия реагентов приводит к протеканию в реакционной среде не только реакций комплексообразования, но и гидролитического расщепления.

В настоящей работе мы приводим подтверждение данного факта.

Экспериментальная часть

В работе использовались инулин пищевой, выделенный из *Helianthus tuberosus* по ТУ 9187-002-97357430-09 (ООО «Рязанские просторы») без дополнительной очистки, свежезамороженный кристаллический йод, этанол 95%.

Реакция **In** с йодом с целью увеличения растворимости йода проводилась в среде вода-этанол (1:100) при мольном соотношении реагентов 1:1. Реакционная смесь перемешивалась при 50°C в течение часа и далее на сутки помещалась в темное место. Надосадочная жидкость подвергалась испарению в защищенном от света эксикаторе. Полученный продукт (**I**) был растворен в D₂O и охарактеризован методом ЯМР спектроскопии.

Реакцию гидролиза при мольном соотношении реагентов 1:1 и комнатной температуре проводили в дейтерированных растворителях с целью возможности контроля с помощью ЯМР спектроскопии. Для растворения обоих реагентов использовалась смесь оксида дейтерия и d-метанола (1:1). Наблюдение проводилось в течение 6 недель.

ЯМР ¹H и ¹³C спектры образцов были зарегистрированы на импульсном спектрометре Bruker Avance-III 500 MHz с рабочей частотой 500.13 МГц (¹H), 125.47 МГц (¹³C) с использованием 5 мм датчика с Z-градиентом РАВВО при постоянной температуре образца 298 К. С целью увеличения цифрового разрешения применялось дополнение нуля и умножение Фурье-образа спектра на экспоненциальную функцию (lb= 0.1 Гц для ¹H и 1 Гц

для ¹³C). Для интегрирования сигналов ЯМР ¹³C дополнительно были зарегистрированы спектры ЯМР ¹³C с обратной прерывистой развязкой от протонов (zgig) с релаксационной задержкой 20.0 с.

Пробы готовились в концентрации 50 мг на 0.9 мл суммы дейтерированных растворителей. Химические сдвиги в спектрах ЯМР ¹³C, ¹H приведены в м.д. относительно внешнего стандарта DSS.

Результаты и их обсуждение

Йодсодержащие соединения на основе инулина эффективно корректируют деятельность щитовидной железы при йододефицитных состояниях и являются перспективными нутрицевтиками, совместимыми с пищевыми продуктами. С целью увеличения выхода продуктов реакции и содержания в них йода проводилось варьирование условий реакции взаимодействия **In** с йодом. Анализ методом ЯМР спектроскопии показал сохранение структуры исходного олигосахарида в его соединениях с йодом, выделенных по методикам [7]. При синтезе по приведенной выше методике было отмечено появление в спектрах ЯМР сигналов, соответствующих моносахаридам – глюкозе и фруктозе, свидетельствующих о протекании реакции гидролиза **In**. Для уточнения этого факта взаимодействие реагентов было проведено непосредственно в смеси дейтерированных растворителей D₂O–CD₃OD (1:1) с целью мониторинга хода реакции методом ЯМР спектроскопии в режиме реального времени. Как видно из представленного рисунка, в реакционной смеси действительно наблюдается появление сигналов моносахаридов, интенсивность которых возрастала со временем.

Рис. 1. Изменения в спектре ЯМР ¹³C при взаимодействии инулина с йодом (мольное соотношение **In**:I₂ = 1:1) в водно-метанольном растворе (D₂O : CD₃OD = 1:1); а – 1 день с момента начала взаимодействия; б – через 6 недель.

По сравнению со спектром исходной реакционной смеси, в спектре ЯМР ^{13}C продуктов взаимодействия **In** с йодом в диапазоне 92–104 м.д. наблюдается появление новых сигналов (рис. 1). В области 97 м.д. появляется сигнал ядра атома C(2) β -глюкозы ($\beta\text{-Gl}_2$), в области 99 м.д. – сигнал C(2) свободной α -фруктозы ($\alpha\text{-Fr}_2$). Сигнал в области 103 м.д. соответствует ядру атома углерода C(2) β -фруктозы ($\beta\text{-Fr}_2$), при 93.7 – C(2) α -глюкозы ($\alpha\text{-Gl}_2$). Отнесение соответствует литературным данным [9]. Появление этих сигналов обусловлено гидролизом олигосахарида. Сигналы 104–106 м.д. соответствуют ядрам атомов углерода C(2) фруктозы в составе олигосахарида: фруктозным фрагментам, находящимся в середине цепи ($\text{In_Fr}_2\text{-mid}$) и концевому фруктозилу ($\text{In_Fr}_2\text{-H}$).

Таким образом, методом ЯМР ^{13}C спектроскопии показано, что в водно-спиртовых растворах в присутствии йода происходит гидролиз олигосахарида **In** с образованием аномерных форм глюкозы и фруктозы.

Работа выполнена в рамках государственных заданий Министерства науки и высшего образования (№АААА-А17-117011910027-0 и №АААА-А17-117011910033-1) с использованием оборудования ЦКП «Химия» УФИХ УФИЦ РАН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ahmed W., Rashid S. Functional and therapeutic potential of inulin: A comprehensive review // Critical reviews in food science and nutrition. 2019. Vol. 59. P. 1–13. DOI:10.1080/10408398.2017.1355775.
2. Mensink M. A., Frijlinn H. W., van der Voort Maarschalk K., Hinrichs W. L. Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics // Carbohydrate Polymers. 2015. Vol. 130. P. 405–419. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.05.026.
3. Akram W., Joshi R., Garud N. Inulin: a promising carrier for controlled and targeted drug delivery system // Journal of Drug Delivery & Therapy. 2019. Vol. 9 (1-s). P. 437–441. DOI: 10.22270/jddt.v9i1-s.2398.
4. Apolinário A. C., Damasceno B. P. G. L., Beltrão N. E. M. et al. Inulin-type fructans: a review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology // Carbohydrate Polymers. 2014. Vol. 101. P. 368–378. DOI: 0.1016/j.carbpol.2013.09.081.
5. Matussek A., Merész P. Effect of temperature and pH on the degradation of fructo-oligosaccharides // European Food Research and Technology. 2009. Vol. 228. P. 355–365. DOI: 10.1007/s00217-008-0941-8.
6. Конкина И. Г., Иванов С. П., Лобов А. Н., Муллагильдина К. И., Одинокоева Е. В., Тучкина Л. К., Файзрахманов И. С., Козлов В. Н. Соотношение звеньев глюкозы и фруктозы в макромолекулах образца инулина: определение методом ^{13}C ЯМР спектроскопии // Вестник Башкирского университета. 2018. Т. 23. №3. С. 705–709. DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2018.3.24.
7. Патент РФ №2611839. Мамцев А. Н., Козлов В. Н., Пономарев Е. Е., Даниленко А. Л., Конкина И. Г., Иванов С. П., Байматов В. Н., Камилов Ф. Х., Муринов Ю. И., Кузнецова Е. В., Хурашшина А. Р., Ганеев Т. И. Состав для производства йодсодержащих БАД. Опубл. 01.03.17. Бюл. №7.
8. Конкина И. Г., Иванов С. П., Максютков Р. Р., Хурашшина А. Р. Изучение межмолекулярного взаимодействия в системе поли- (2 $\rightarrow$ 1)- β -D-фруктофуранан – йод // Вестник БГПУ им. М. Акмуллы. 2016, Т. 39. №3. С. 12–19.
9. Qiao Y., Pedersen C. M., Huang D., Ge W., Wu M., Chen C., Jia S., Wang Y., Hou X. NMR study of the hydrolysis and dehydration of inulin in water: comparison of the catalytic effect of Lewis acid SnCl_4 and Brønsted acid HCl // ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 2016. Vol. 4. P. 3327–3333. DOI: 10.1021/acssuschemeng.6b00377.

Поступила в редакцию 27.06.2019 г.

INULIN HYDROLYSIS IN THE PRESENCE OF IODINE

© K. I. Mullagildina¹, S. P. Ivanov^{2*}, I. G. Konkina², A. N. Lobov²,
L. A. Dautova³, V. N. Kozlov⁴, R. R. Maxytov⁴, Yu. I. Murinov²,
I. S. Fayzrakhmanov¹

¹Bashkir State University

32 Zaki Validi Street, 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.

²Ufa Institute of Chemistry, Ufa Federal Research Center of RAS

71 Oktyabrya Avenue, Ufa 450054, Republic of Bashkortostan, Russia.

³Bashkir State Medical University

3 Lenin Street, 450000 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.

⁴K. G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management
(The First Cossack University), Bashkir Institute of Technologies and Management
34 Smolenskaya Street, 453850 Meleuz, Republic of Bashkortostan, Russia.

Phone: +7 (347) 235 60 96.

*Email: ivanov_sp@anrb.ru

Inulin (In) is actually important natural ingredient used in food and pharmaceutical industry because of its diversified technological and functional properties. Hydrolysis of In makes it possible to obtain demanded mono- and oligosaccharides, valuable reagents for chemical synthesis, components of biofuel. This aspect of the study is also relevant for determining the range of stability of poly- and oligosaccharides. Earlier, the authors of the study synthesized iodine compounds with macromolecules of a sample of inulin from *Helianthus tuberosus* (degree of polymerization 8), in order to study the delivery of this essential trace element to the human body as part of food. In the course of the study, it was found that change of interaction conditions leads to not only complexation, but also to a hydrolytic cleavage. In this paper, the authors provide confirmation of this fact. The hydrolysis reaction at molar ratio of reagents of 1:1 was carried out directly in deuterated solvents ($D_2O:CD_3OD = 1:1$) in order to monitor the course of the reaction by NMR spectroscopy in real time. The observation was carried out for 6 weeks. In the ^{13}C NMR spectrum of the reaction mixture of In with iodine, the appearance of new signals in the anomeric range of 92–104 ppm is observed: in the region of 97 ppm the signal of the nucleus of the C(2) β -glucose atom appears, in the region of 99 ppm – C(2) signal of free α -fructose, at 103 ppm – C(2) β -fructose, at 93.7 – C(2) α -glucose. Thus, it was shown, that the hydrolytic cleavage of In in the presence of iodine in aqueous-alcoholic solutions is observed with the formation of anomeric forms of glucose and fructose.

Keywords: inulin, iodine, hydrolysis, NMR spectroscopy.

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Ahmed W., Rashid S. Critical reviews in food science and nutrition. 2019. Vol. 59. Pp. 1–13. DOI:10.1080/10408398.2017.1355775.
2. Mensink M. A., Frijlin H. W. Carbohydrate Polymers. 2015. Vol. 130. Pp. 405–419. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.05.026.
3. Akram W., Joshi R., Garud N. Journal of Drug Delivery & Therapy. 2019. Vol. 9 (1-s). Pp. 437–441. DOI: 10.22270/jddt.v9i1-s.2398.
4. Apolinário A. C., Damasceno B. P. G. L., Beltrão N. E. M. et al. Inulin-type fructans: a review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. Carbohydrate Polymers. 2014. Vol. 101. Pp. 368–378. DOI: 0.1016/j.carbpol.2013.09.081.
5. Matussek A., Merész P. European Food Research and Technology. 2009. Vol. 228. Pp. 355–365. DOI: 10.1007/s00217-008-0941-8.
6. Konkina I. G., Ivanov S. P., Lobov A. N., Mullagildina K. I., Odinkova E. V., Tuchkina L. K., Fayzrakhmanov I. S., Kozlov V. N. Vestnik Bashkirskogo universiteta. 2018. Vol. 23. No. 3. Pp. 705–709. DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2018.3.24.
7. Patent RF No. 2611839. Mamtsev A. N., Kozlov V. N., Ponomarev E. E., Danilenko A. L., Konkina I. G., Ivanov S. P., Baimatov V. N., Kamilov F. Kh., Murinov Yu. I., Kuznetsova E. V., Khuramshina A. R., Ganeev T. I. Sostav dlya proizvodstva iodsoderzhashchikh BAD. Opubl. 01.03.17. Byul. No. 7.
8. Konkina I. G., Ivanov S. P., Maksytov R. R., Khuram-shina A. R. Vestnik BGPU im. M. Akmully. 2016, T. 39. No. 3. Pp. 12–19.
9. Qiao Y., Pedersen C. M., Huang D., Ge W., Wu M., Chen C., Jia S., Wang Y., Hou X. ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 2016. Vol. 4. Pp. 3327–3333. DOI: 10.1021/acssuschemeng.6b00377.

Received 27.06.2019.