

5. ГОСТ 4011 – 72. Вода питьевая. Методы измерения массовой концентрации общего железа.

6. РД 52.24.494-95 Методические указания. Фотометрическое определение никеля с диметилглиоксимом в поверхностных водах суши.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКА В ПОЛИСАХАРИДНОМ КОМПЛЕКСЕ ЛИСТЬЕВ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ

Воронина Ю.Ю.², Кривощев С.В.^{1,2}, Басова Е.В.², Гурьев А.М.²
¹Национальный Исследовательский Томский Политехнический Университет
634050, г.Томск, пр.Ленина,30, тел.(3822)-444-555
E-mail: ksv_tsu@mail.ru
²Сибирский Государственный Медицинский Университет
634000, г.Томск, Московский тр. 2, тел. (3822)-41-78-33
E-mail: voronina_yu@mail.ru

Потребность медицинской практики в использовании лекарственных растений и препаратов на их основе была всегда. В последнее время существенно возрос интерес к растительным полисахаридам (ПС), что связано, прежде всего, с широким спектром их фармакологической активности (противовоспалительная, гипохолестеремическая, антиангиогенная, противоопухолевая) [1].

Одним из этапов создания лекарственных средств является их стандартизация, которая является, основным гарантом их высокого качества при серийном производстве и обеспечивает эффективность и безопасность применения. Одним из параметров стандартизации является определение примесей в лекарственном средстве.

В лекарственных веществах, получаемых из растительного и животного сырья, основными примесями являются сопутствующие природные соединения (алкалоиды, ферменты, белки, гормоны и др.). Многие из них очень сходны по химическому строению и физико-химическим свойствам с основным продуктом экстракции. Определение содержания белка проводят в лекарственных средствах, выделенных из природных источников. Для количественного определения белковых веществ использовались методы рекомендованные ГФ 12.

Метод Лоури отличается высокой чувствительностью, но определению мешают многие вещества (нуклеиновые кислоты, нуклеотиды) [2]. В последнем случае применяют метод с предварительным осаждением белка. Зависимость поглощения белка от его концентрации нелинейная, однако, в области малых концентраций ее можно считать линейной [2]. Определение проводят по калибровочному графику, построенному по растворам стандартного образца белка, который воспроизводят при каждом анализе. Метод основан на биуретовой реакции белков с солями меди(II) в щелочном растворе и восстановлении фосформолибдено-вольфрамового реактива (или реактива Фолина) в гетеромолибденовый краситель с максимумом поглощения при длине волны 750 нм в результате окисления ароматических аминокислот белка. Развитие окраски достигает максимума через 20-30 мин. при комнатной температуре, в дальнейшем

идет уменьшение ее интенсивности. Для уменьшения влияния веществ, мешающих определению, проводят осаждение белков трихлоруксусной кислотой [3].

Для того чтобы уложиться в диапазон линейности (калибровочный график) были приготовлены серии растворов полисахаридов березы повислой с концентрациями 0,5 мг/мл, 1 мг/мл, 1,4 мг/мл, 2,0 мг/мл. После проведения испытания по стандартной методике оказалось, что в диапазон линейности входят только растворы ПС с концентрацией 1,4 мг/мл. Затем по уравнению прямой рассчитали концентрацию белка в комплексе.

Концентрация белка в ПСК определенная по методу А равна $3,9 \pm 0,7$.

Следующий метод определения белковых веществ является метод Бредфорда, который используется для белков и пептидов с молекулярной массой более 3000 Да. Метод имеет высокую чувствительность, но степень связывания красителя в значительной степени зависит от индивидуальных свойств белка [2].

Метод основан на измерении светопоглощения продукта взаимодействия красителя кислотного синего 90 с белком при длине волны 595 нм. Связывание красителя происходит в анионной форме преимущественно с остатками аргинина и в меньшей степени с остатками лизина, гистидина, триптофана и фенилаланина белка [2].

Для того чтобы уложиться в диапазон линейности (калибровочный график) были приготовлены серии растворов полисахаридов березы повислой с концентрациями 3,5 мг/мл, 4,1 мг/мл, 4,5 мг/мл, 5,0 мг/мл соответственно. После проведения испытания по стандартной методике оказалось, что в диапазон линейности входят только растворы ПС с концентрацией 4,1 мг/мл

После расчета концентрации белка в комплексе, получили следующие данные:

	М-д Бредфорда	М-д Лоури без осаждения
Концентрация белка в ПСК (%)	$4,9 \pm 0,4$	$3,9 \pm 0,7$

Вывод: установили содержание белка в полисахаридном комплексе двумя методами (метод Лоури и Бредфорда): $4,9 \pm 0,4$ % и $3,9 \pm 0,7$ %. Таким образом, при дальнейшей работе в области стандартизации препаратов на основе полисахаридов листьев березы повислой можно применять оба метода.

Список литературы:

1. Верещагин, В.И. Полезные растения Западной Сибири/ В. И. Верещагин, К. А. Соборевская, А. И. Якубова. – М.-Л. : АИ СССР, 1959.- 348с.
2. Государственная фармакопея РФ: Вып. 12. Определение белка/РФ. -12 изд.- М.- Медицина, 2008 г.- 336с.
3. Lowry O., Rosenbrogh N., Farr A., Randall R. Protein measurement with the Folin reagent // I. Biol. Chem. 1951. V. 1. Pp. 265–275.