

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ В ЖЕЛЧИ МЕТОДОМ ВЭЖХ

К.И. Ровкина¹, Д.А. Исаков²

¹Национальный исследовательский Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30

²Сибирский государственный медицинский университет
634050, Россия, г. Томск, Московский тракт 2 стр. 18

Введение

На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются одной из главных причин смертности, наряду с онкологическими заболеваниями. В ряду основных причин возникновения ССЗ учеными выделяется атеросклероз [1]. Имеющиеся на данный момент лекарственные средства (ЛС) обладают, либо недостаточной фармакологической активностью, либо существенными побочными эффектами, вследствие чего, поисковые работы в области фармации, направленные на создание более эффективных и безопасных ЛС, является актуальной задачей. Большой интерес для научного сообщества представляют полисахариды, обладающие гипохолестеринемической и гиполипидемической активностью [2], механизм действия заключается в связывании в просвете кишечника желчных кислот, что в свою очередь препятствует всасыванию холестерина.

В рамках данной работы разработана методика и определено содержание желчных кислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в желчи крыс с моделированной хронической гиперлипидемией при добавлении в диету полисахаридов березы.

Методика эксперимента

Экстрагирование ЖК проводилось метанолом. Анализ осуществлялся на ВЭЖХ системе «Ultimate 3000» с детектором на диодной матрице PDA-3000 фирмы «Dionex» (США), с применением колонки Luna C18 (2), 100 Å 250×10 mm. В процессе анализа скорость потока составляла 1 мл / мин; градиент раствора А и Б: (5% Б в начале, затем до 80% Б к 20 мин., затем до 100% Б к 30 минуте с 5-минутным плато, и 5% Б до 40 минуты. Детектирование сигналов осуществлялось при 220 нм. Для определения содержания ЖК использовался метод внешнего стандарта для каждой ЖК.

Результаты и обсуждение

В результате эксперимента (табл. 1) установлено, что более 60% ЖК представлено в виде тауро- и гликохолевых конъюгатов, со значительным преобладанием таурохолевой кислоты, что соответствует данным литературы [3].

Результатом работы является методика ВЭЖХ определения ЖК, которая апробирована на желчи экспериментальных животных.

Таблица 1. Результаты количественного определения ЖК в желчи

Экспериментальная группа (количество животных)	С (ЖК), ммоль/л			
	ChA	Gl-ChA	T-ChA	d-ChA
1. Интактная группа	0,30±0,09	1,13±0,18	6,6±0,4	0,19±0,04
2. Атерогенный контроль	1,11±0,19	2,4±0,5	2,17±0,22	0,54±0,11
3. Атерогенная диета + ПСfВ	0,88±0,18	6,6±0,9	2,59±0,25	0,40±0,02
4. Атерогенная диета + холестирамин	1,02±0,18	8,3±0,7	1,6±0,5	0,38±0,1

Примечание: ChA – холевая кислота; Gl-ChA – гликохолевая кислота; T-ChA – таурохолевая кислота; d-ChA – дезоксихолевая кислота

Список литературы

1. J.C. LaRosa Low-density lipoprotein cholesterol reduction: The end is more important than the means // *Am J Cardiol.*, 2007. – Vol.100. – №2. – P.240–242.
2. Соколова Е.В., Иванова Т.Б., Крыжановский С.П., Богданович Л.Н., Барабанова А.О., Ермак И.М. // *Тихоокеанский медицинский журнал*, 2012. – №1. – С.26–29.
3. Li H. Inhibition of ileal bile acid transport lowers plasma cholesterol levels by inactivating

hepatic farnesoid X receptor and stimulating cholesterol 7 alpha-hydroxylase. / Li H., Xu G., Shang Q., Pan L., Shefer S., Batta A.K.,

Bollineni J., Tint G.S., Keller B.T., Salen G. // Metabolism, 2004. – Vol.53. – №7. – P.927–932.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ ЛИСТЬЕВ БЕРЕЗЫ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

К.И. Ровкина

Научный руководитель – д.х.н., профессор М.С. Юсубов

Национальный исследовательский Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30, rki91@bk.ru

Группа ученых СибГМУ занимается разработкой гипополипидемического препарата на основе полисахаридов березы (*Betula pendula Roth.*, *Betula pubescens Ehrh.*) в рамках программы Фарма 2020. Подлинность, посторонние примеси и количественное содержание действующего вещества – это ключевые параметры качества, влияющие на эффективность и безопасность разрабатываемого лекарственного средства. Для выбора оптимальной методики количественного определения, пригодной для использования в фармацевтическом анализе и включения в нормативную документацию на разрабатываемое лекарственное средство, проведены экспериментальные исследования, а именно, показана возможность использования спектрофотометрического метода, основанного на модифицированной фармакопейной методике определения сахаров.

В качестве объекта исследования использовали воздушносухое сырье – листья березы (*Betula pendula Roth.*, *Betula pubescens Ehrh.*), собранные в окрестностях г.Томска в июне 2017 г. Полисахариды листьев березы (ПСfВ) экстаргировали водой, с последующим осаждением этиловым спиртом. Анализ мономерного состава проводили методом [1].

Предлагаемые ГФ XIII ОФС.1.2.3.0019.15 «Определение сахаров спектрофотометрическим методом» способы количественного определения сахаров: метод определения с пикриновой кислотой и метод определения с орциновым реактивом – не нашли применения в стандартизации субстанции ПСfВ, т.к. основаны на определении только восстанавливающих сахаров (пикриновая кислота) или только пентоз (орциновый реактив). Третий, предлагаемый фармакопейной статьёй, метод определения с антроновым реактивом также имеет недостаток: количественный расчет проводится по стандар-

ту глюкозы, что приводит к искажению результатов анализа сахаров, не содержащих ее в своей структуре.

На первом этапе исследования подобраны условия пробоподготовки – условий гидролиза ПСfВ. Для одновременного проведения процессов гидролиза полисахаридной молекулы и окисления, образующихся моносахаров до производных фурфурола чаще всего используют растворы серной кислоты (98–70%) [2]. На процесс гидролиза-окисления полисахаридов влияют следующие параметры: время гидролиза, концентрация гидролизующего агента и температура нагревания водяной бани. Влияние каждого параметра оценивали поэтапно. На основании проведенных исследований определены оптимальные параметры пробоподготовки: проводить гидролиз в течение 30 минут концентрированной серной кислотой на кипящей водяной бане.

Учитывая состав ПСfВ (галактуронозная кислота, рамноза, галактоза, арабиноза), предложено провести модификацию фармакопейного метода.

Получены электронные спектры продуктов реакции стандартов моносахаридов, входящих в состав ПСfВ, с антроном в разработанных условиях. Спектры поглощения комплексов антрона с продуктами окисления рамнозы и галактозы имел максимум поглощения при длине волны 625 ± 2 нм, что соответствует литературным данным [3, 4]. Однако на спектрах галактуронозной кислоты и арабинозы отсутствовали полосы поглощения при длине волны 625 ± 2 нм.

Таким образом, в качестве стандартного вещества предложено использовать рамнозу, содержание которой в ПСfВ выше содержания галактозы и при количественном определении исследуемого полисахарида поправочный коэффициент на чувствительность к арабинозе и