

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

галктуроновой кислоте.

Разработанная методика валидированна по следующим параметрам: линейность, правиль-

ность, прецизионность в условиях повторяемости и воспроизводимости.

Список литературы

1. Popov S.V., Ovodova R.G., Golovchenko V.V., Khranova D.S., Markov P.A., Smirnov V.V. // *Food Chemistry*, 2014.– №143.– P.106–113.
2. Kinzo N. Yasuo T. Yuko I. Noriko T. // *Carbohydrate Research*, 1971.– Vol.18.1.1.– P.95–102.
3. Bailey R.W. // *Biochem J.*, 1958.– Vol.68.4.– P.669–672.
4. Sondergaard G. // *Scand J Clin Lab Invest.*, 1958.– Vol.10.1.2.– P.203–210.

ПОЛИСАХАРИДЫ КАЛУСНЫХ КУЛЬТУР ВАСИЛЬКА ШЕРОХОВАТОГО

К.И. Ровкина¹, А.Н. Савельева²

¹Национальный исследовательский Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30, rki91@bk.ru

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

Введение. Влияние антропогенных факторов на окружающую среду сокращает численность и разнообразие растений, в том числе и лекарственных. Но благодаря культивированию клеток *in vitro* эта проблема частично решается. Каллусные культуры используются как вторичный источник сырья, но зачастую в них снижено количество соединений, синтезируемых клетками растения. Группой ученых ТГУ и СибГМУ проводится комплексное изучение василька шероховатого как перспективного источника биологически активных веществ. Ряд работ посвящены исследованию гепатопротекторной активности полисахаридов (ПС) и экстрактов василька шероховатого [1–2]. Таким образом, поиск альтернативных источников биологически активных веществ, в том числе ПС является актуальной задачей в рамках комплексного исследования.

Цель. Изучить химический состав водорастворимых пектиновых полисахаридов (ВРПС) и пектиновых полисахаридов (ПП) протопектинового комплекса каллусных культур василька шероховатого полученных из различных тканей.

Методика эксперимента. Объектами исследования являлись каллусные культуры василька шероховатого полученных из тканей «настоящего» листа (КЛ1С) и тканей семядольного листа (КЛ2С). Каллусная культура василька шероховатого получена на кафедре Физиологии растений и биотехнологии биологического института НИ ТГУ, предоставлена

Филоновой Марией Васильевной - аспирант, ассистент кафедры. Каллусы депигментировались горячим этилацетатом. Для выделения водорастворимых полисахаридов (ВРПС) использовали метод экстракции водой при нагревании (60 °С) в течение 2 часов. Далее шрот экстрагировали подкисленной водой (HCl) при температуре 80 °С в течение 2 часов для получения кислых ПС (КПС). Пектины получали путем экстракции шрота раствором 0,5 % NH₄C₂O₄ (80 °С, 2 часа). ПС осаждали этанолом, растворяли в H₂O, диализировали в течение 2 дней. Выход ПС определяли гравиметрически. Мономерный состав ПС изучали методом газо-жидкостной хроматографии после кислотного гидролиза трифторуксусной кислотой, с последующим ацелированием полиолов. Содержание уоновых кислот (УК) определяли спектрофотометрически по реакции с 3,5-диметилфенолом, содержание белка методом Лоури. Молекулярно-массовое распределение изучали методом эксклюзионной ВЭЖХ.

Результаты. Выход ВРПС из КЛ1С практически соответствует выходу ВРПС из наземной части василька шероховатого, выход из КЛ2С незначительно ниже. Выход ПП из КЛ1С выше, чем из растительного сырья, а из КЛ2С – ниже. По содержанию УК ВРПС и КПС каллусов различаются не значительно (~5 %), а разница в содержании УК для ПП достигает ~15 %. Также значительно различаются молекулярные массы всех полученных фракций ПС, что косвенно может свидетельствовать о