

УГЛЕВОДЫ ЛЕКАРСТВЕННОГО СБОРА «УВАУР»

Н.Г. Селезнев^{1*}, канд. фарм. наук, Д.М. Попов², докт. фарм. наук, профессор, Г.Н. Селезнев¹

¹Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова;
390026, Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова;
119991, Москва, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2

*E-mail: pharm-tech@mail.ru

Приведены результаты определения с помощью методов ВЭЖХ и капиллярного электрофореза качественного и количественного содержания свободных и связанных сахаров в сборе «Уваур».

Ключевые слова: углеводы, свободные сахара, связанные сахара, состав, содержание, лекарственный сбор «Уваур».

Одной из групп биологически активных веществ (БАВ), содержащихся в лекарственных растениях, являются полисахариды, оказывающие выраженное противовоспалительное, противовирусное, иммуностропное, антимикробное и другие действия [1, 2]. При гидролизе полисахариды (полиозы) расщепляются с образованием 2 и

более молекул моноз (моносахаридов) [3]. С позиции технологии и биофармации углеводы, к которым относятся полисахариды, способствуют улучшению растворения и всасывания действующих веществ фитопрепаратов, усиливают их действие, снижая негативное побочное воздействие на организм [4].

Лекарственное растительное сырье (ЛРС), содержащее полисахариды, широко применяется в составе лекарственных сборов для лечения заболеваний мочевыводящей системы. В комбинации с другими БАВ они действуют комплексно, более мягко без существенных побочных явлений [5].

Ранее нами был предложен растительный сбор «Уваур», состоящий из листьев толокнянки, травы череды, почек березовых. Сбор оказывает выраженное антимикробное, мочегонное, противовоспалительное действия [6]. В сборе «Уваур» было определено содержание фенололгликозида арбутина [7].

Цель данной работы – изучение состава углеводов в сборе «Уваур».

Экспериментальная часть

Объект исследования – экспериментальный образец сбора, изготовленный в лабораторных условиях из промышленных образцов ЛРС, отвечающего требованиям Государственной фармакопеи IX издания – ГФ XI [8].

В сборе определяли качественный состав и количественное содержание свободных и связанных сахаров. На 1-м этапе исследования сахара идентифицировали с помощью качественных реакций, затем определяли их качественный состав и количественное содержание с помощью методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и капиллярного электрофореза.

Пробоподготовка проводилась по следующей методике: около 5 г сбора, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, помещали в коническую колбу, прибавляли 30 мл воды и нагревали на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения в течение 30 мин извлечение фильтровали через ватный тампон в мерную колбу вместимостью 50 мл. Экстракцию повторяли с 20 мл воды в течение 15 мин. После охлаждения извлечение фильтровали в ту же мерную колбу. Объем раствора в колбе доводили водой до метки и перемешивали (раствор А). Для очистки от полифенольных соединений 15 мл раствора А пропускали через колонку диаметром 1 см с 3 г алюминия оксида для хроматографии II степени активности – получали очищенное водное извлечение (раствор Б), в котором определяли свободные сахара реакцией Бертрена с реактивом Фелинга. Реакция давала положительный результат.

Для определения связанных сахаров к 2 мл раствора Б прибавляли 2 мл кислоты серной разведенной и нагревали на кипящей водяной бане в течение 5 мин – получали раствор В, в котором присутствие сахаров также подтверждали реакцией с реактивом Фелинга.

Для изучения состава и количественного содержания углеводов в сборе методом ВЭЖХ к 30 мг измельченного сбора прибавляли 1 мл воды в пробирку с завинчивающейся пробкой, нагревали при температуре 90°C до набухания сырья и экстрагировали углеводы в течение 1 ч при температуре 25°C, встряхивая. Полученное извлечение центрифугировали 10 мин при скорости 14000 об/мин, добавляли активированный уголь (30 мг), встряхивали и снова центрифугировали 10 мин при скорости 14000 об/мин. 20 мкл супернатанта анализировали методом прямофазовой ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1100 на колонке Luna NH₂ 4,6 × 250 мм (5 мкм) с подвижной фазой ацетонитрил – вода (70:30) при скорости потока 1 мл/мин, при комнатной температуре и с рефрактометрическим детектированием. Отношение пиков и расчет концентраций проводили по внешнему стандарту, содержащему смесь анализируемых углеводов в концентрации 10 г/л.

Как показал анализ сбора, в нем присутствуют свободные сахара – фруктоза, сахароза и глюкоза, сумма свободных сахаров в сборе составляет в среднем 3,73% (см. табл., рис. 1, 2).

Для определения связанных сахаров к 30 мг измельченного сбора прибавляли 1 мл 1М раствора кислоты хлористоводородной и проводили гидролиз при температуре 100°C в течение 2,5 ч. Полученное извлечение центрифугировали 10 мин при скорости 14000 об/мин. К 0,5 мл супернатанта при-

СОДЕРЖАНИЕ УГЛЕВОДОВ В СБОРЕ «УВАУР»

Сахара	Содержание, %			Среднее значение суммы сахаров, %
	1	2	3	
<i>Свободные сахара</i>				
Фруктоза	1,37	1,34	1,41	3,73
Глюкоза	1,93	1,90	1,96	
Сахароза	0,43	0,41	0,45	
Сумма	3,73	3,65	3,82	
<i>Связанные сахара</i>				
Манноза	4,40	0,42	0,38	6,17
Глюкоза	2,57	2,61	2,54	
Ксилоза	0,90	0,86	0,94	
Галактоза	1,30	1,36	1,24	
Арабиноза	1,00	1,05	0,95	
Сумма	6,17	6,30	6,05	

бавляли 1,5 мл воды; 2 мл полученного раствора пропускали через обращенно-фазный концентрирующий патрон (Диасорб С16), отбрасывая первые 1,8 мл и собирая последующие 0,2 мл. К 20 мкл раствора смеси стандартов в концентрации 1 г/л каждого углевода (внешний стандарт) и исследуемого раствора прибавляли 20 мкл раствора внутренне-

го стандарта (раствор глюкозамина с концентрацией 1г/л) и упаривали на вакуумном центрифужном испарителе типа Speed Vac с подогревом в полипропиленовой пробирке. К высушенной пробе добавляли 20 мкл 0,5 М раствора РМР (1-фенил-3-метил-5-пирозалон) в метаноле и 20 мкл 0,3 М раствора калия гидроксида, тщательно встряхивали на вихревом шейкере и термостатировали при температуре 70°C в течение 2 ч. Пробу нейтрализовали 20 мкл 0,3М раствора хлористоводородной кислоты и дважды экс-

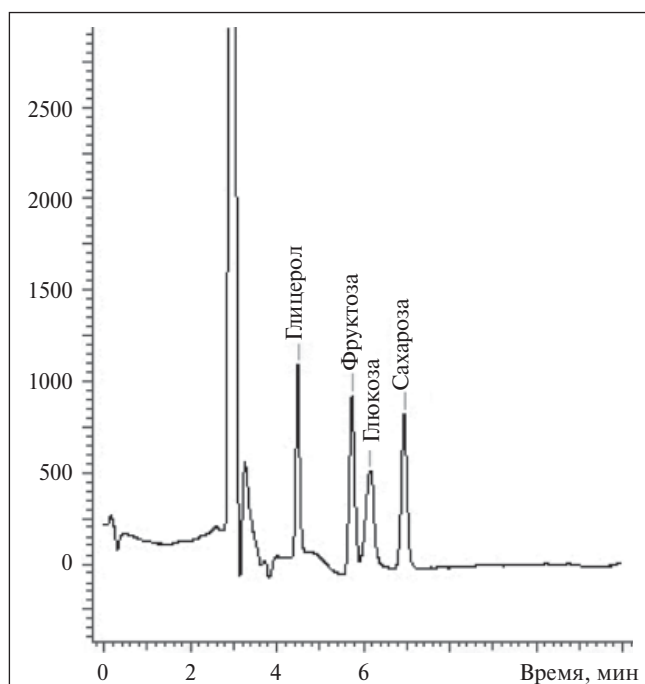


Рис. 1. Хроматограмма смеси стандартов для определения свободных сахаров в сборе «Уваур», 10 г/л

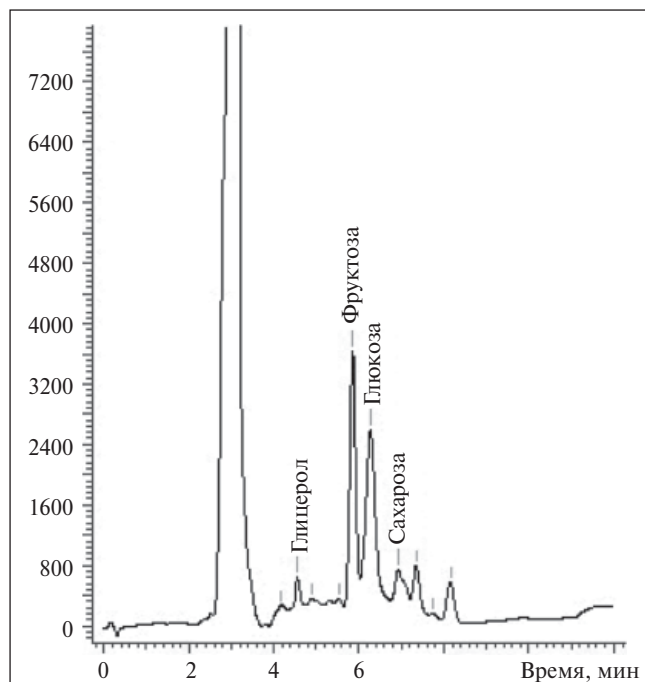


Рис. 2. Хроматограмма водного извлечения сбора «Уваур»

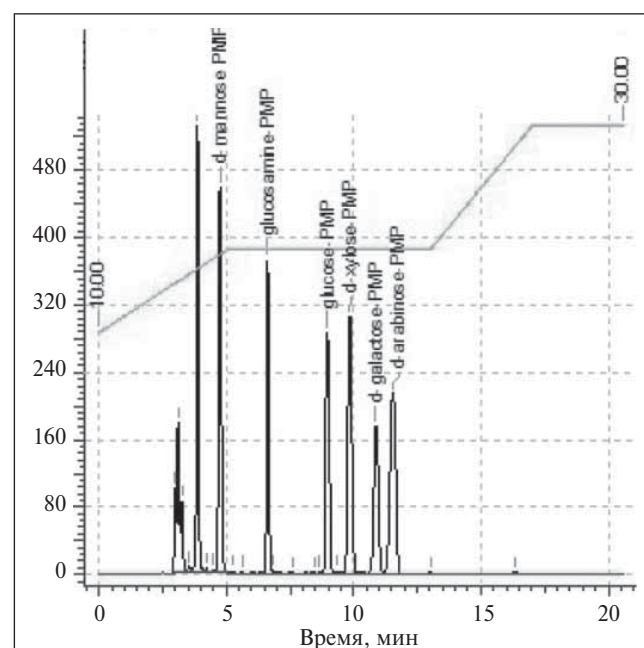


Рис. 3. Электрофореграмма смеси стандартов для определения связанных сахаров в сборе «Уваур», 1г/л

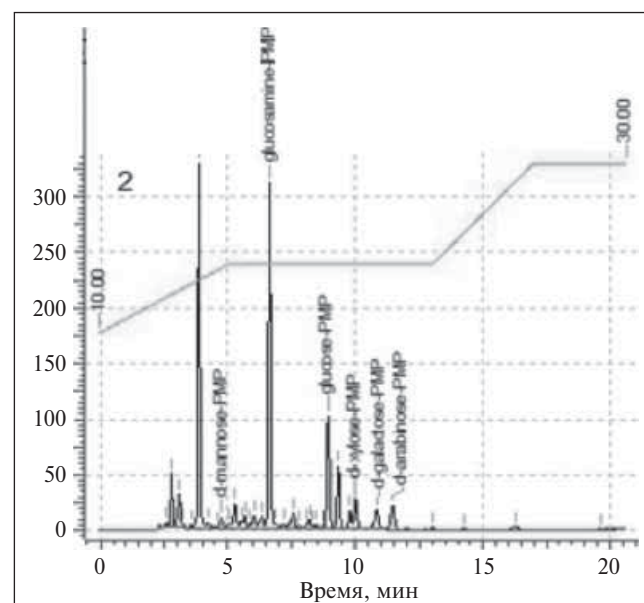


Рис. 4. Электрофореграмма продуктов гидролиза водных извлечений сбора «Уваур»

трагировали избыток экстрагента РМР 500 мкл бензола. Остаток упаривали на испарителе Speed Vac с подогревом и растворяли в 500 мкл смеси ацетонитрил – вода (1:9). Полученную смесь анализировали методом капиллярного электрофореза на приборе Applied Biosystems 270Т с УФ-детектированием при длине волны 245 нм и температуре 30°С. Отношение пиков и расчеты концентрации углеводов проводили по внутреннему (глюкозамину) и внешнему стандарту – смеси 5 анализируемых углеводов в концентрации 1 г/л.

Результаты анализа показали, что связанные сахара в сборе «Уваур» представлены маннозой, глюкозой, ксилозой, галактозой и арабинозой. Сумма связанных сахаров в сборе составила в среднем 6,17% (см. табл., рис. 3, 4).

Выводы

1. В сборе «Уваур» присутствуют свободные и связанные сахара. Свободные сахара представлены фруктозой, сахарозой, глюкозой, связанные – маннозой, глюкозой, ксилозой, галактозой, арабинозой.

2. Определено количественное содержание свободных и связанных сахаров в сборе. Сумма свободных сахаров составляет 3,73%, связанных – 6,17%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коренская И.М., Ивановская Н.П., Колосова О.А. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащее витамины, полисахариды, жирные масла. Воронеж: ИПЦ Воронежского госуниверситета, 2008; 88.
2. Оленников Д.Н., Кашченко Н.И. Полисахариды. Современное состояние изученности: экспериментально-наукотометрическое исследование. Химия растительного сырья, 2014; 1: 5-26.
3. Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013; 976.
4. Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2004; 558.
5. Иващенко Н.В., Самылина И.А. Антимикробная активность лекарственного сбора «Уросан». Фармация, 2013; 2: 39-40.
6. Селезнев Г.Н. и др. Разработка и исследование лекарственного растительного сбора «Уваур». Сеченовский вестник, 2014; 1 (15): 139-140.
7. Селезнев Г.Н., Попов Д.М., Селезнев Н.Г. Разработка методики определения арбутина в сборе, содержащем листья толокнянки, траву череды, почки березовые. Фармация, 2011; 4: 18-20.
8. Государственная фармакопея СССР. XI изд., вып.2. М.: Медицина, 1990; 400.

Поступила 20 декабря 2014 г.

CARBOHYDRATES IN THE COMBINATION HERBAL MEDICINAL PRODUCT «UVAUR»

N.G. Seleznev¹, PhD; Professor D.M. Popov², PhD; G.N. Seleznev¹

¹Academician I.P. Pavlov Ryazan State Medical University; 9, Vysokovoltnaya St., Ryazan 390026

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991

SUMMARY

Medicinal plant raw material containing polysaccharides is widely used as part of combination herbal medicinal products for the treatment of a urinary tract disease. A novel combination herbal medicinal product «Uvaur» (manzanita (Arctostaphylos) leaves, beggarticks (Bidens) herb, birch (Betula) buds) having pronounced antimicrobial, diuretic, and anti-inflammatory activities has been proposed. The paper gives the results of determining the content of free and bound sugars in the Uvaur product by HPLC and capillary electrophoresis. The free sugars in the product are fructose, saccharose, and glucose; the bound sugars are mannose, glucose, xylose, galactose, abs arabinose. The sum of free sugars is 3.73% and that of bound sugars is 6.17%.

Key words: carbohydrates, free sugars, bound sugars, composition, content, combination herbal medicinal product Uvaur.

REFERENCES

1. Korenskaya I.M., Ivanovskaya N.P., Kolosova O.A. Medicinal plants and herbal raw material containing vitamins, polysaccharides, fatty oils. Voronezh, 2008; 88 (in Russian).
2. Olennikov D.N., Kashchenko N.I. Polysaccharides. The current state of knowledge: experimental study of naukometri eskoe. J.Chemistry of plant material, 2014; 1: 5-26 (in Russian).
3. Samylin I.A., Yakovlev G.P. Pharmacognosy. Moscow: «GEOTAR-media», 2013; 976 (in Russian).
4. Minina S.A., Kauhova I.E. Chemistry and technology of phytopreparations. Moscow: «GEOTAR-media», 2004; 558 (in Russian).
5. Ivashchenko N.V., Samylin I. A. Antimicrobial activity of medicinal «Urosan» collection». Farmatsiya, 2013; 2: 39-40 (in Russian).
6. Seleznev G.N. et al. Development and research of medicinal plant collection «Uvaur». Sechenovskiy Gazette, 2014; 1 (15): 139-140 (in Russian).
7. Seleznev G.N., Popov D.M., Seleznev N.G. Development of the method of determination of arbutine assemblies containing bearberry leaves, grass series, kidney Birch. Farmatsiya, 2011; 4: 18-20 (in Russian).
8. The State Pharmacopoeia of the USSR, XI ed., vol.2. Moscow, «Medicine», 1990; 400 (in Russian).