

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ ИНУЛИНСОДЕРЖАЩЕГО ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ПРОТИВОДИАБЕТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ

А. В. Яницкая, И. Ю. Митрофанова

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра фармакогнозии и ботаники*

Для совершенствования методик анализа количественного содержания инулина в корневищах и корнях девясила высокого проведена сравнительная оценка различных методик спектрофотометрического определения инулина. Показана достоверная сходимость между выбранными методиками. Результаты совместной статистической обработки выборок показали более высокую воспроизводимость методики 2 и целесообразность использования содержания полифруктанов (методика 2) для количественного анализа данного полифруктозана в предлагаемом сырье.

Ключевые слова: инулин, девясил высокий, спектофотометрия.

INULIN HERBAL RAW MATERIAL AND ANTIDIABETIC COMPLEX STANDARTIZATION RESEARCH

A. V. Yanitskaya, I. Yu. Mitrofanova

To perfect inulin quantitative analysis in *Inula helenium* rhizome and roots we carried out a comparative evaluation of different spectrophotometry techniques of inulin determination. A reliable convergence of both techniques was established. As a result of statistical treatment of samples it was established that the first technique is more reproducible. Thus it is expedient to determine the total fructan quantitative order in *Inula helenium* rhizome and to use the studied technique for quantitative analysis of this fructanin.

Key words: inulin, *Inula helenium*, spectrophotometry.

В последнее время возрастает интерес к производству и использованию в медицине малотоксичных и высокоэффективных лекарственных средств на основе растительного сырья для профилактики и лечения распространенных заболеваний. Растительные препараты более родственны организму, чем синтетические, поэтому возможно их длительное применение с минимальным риском возникновения побочных эффектов. Особое значение это имеет при лечении заболеваний, требующих комплексного подхода и постоянной медикаментозной коррекции, таких как сахарный диабет.

В настоящее время одним из перспективных направлений является применение инулинсодержащих противодиабетических комплексов в дополнение к базисной терапии сахарного диабета II типа [2].

Перспективность применения инулина при лечении сахарного диабета II типа обусловлена рядом его ценных фармакологических свойств, таких как способность снижать только повышенный уровень глюкозы в крови, не влияя на нормальную гликемию; регулировать не только углеводный, но и липидный обмен, существенно снижая риск возникновения многих осложнений сахарного диабета (атеросклероз, диабетическая нейропатия, импотенция, ретинопатия и др.); а также улучшать усвояемость организмом цинка и меди, обладающих гипогликемическим эффектом [5].

Среди промышленных источников инулина одну из приоритетных ассортиментных позиций может занимать девясил высокий, корневища и корни которого содержат до 19,80—43,58 % данного полифруктозана

[2]. Однако в официальной медицине сырье данного растения используется только как отхаркивающее и противомикробное лекарственное средство при заболеваниях верхних дыхательных путей и эрозивно-язвенных поражениях желудочно-кишечного тракта [1].

В связи с этим нам представляется целесообразным обосновать возможность медицинского применения корневищ и корней девясила высокого как источника инулинсодержащих биологически активных комплексов и предложить оптимальную методику для количественного анализа указанного сырья.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Сравнительная оценка методик количественного анализа сырья девясила высокого.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования служили корневища и корни девясила высокого, собранные осенью 2010 г. в Среднеахтубинском районе Волгоградской области. Количественное содержание инулина оценивали методом спектрофотометрии по двум альтернативным методикам.

Методика 1. Количественное определение инулина по разнице фруктозидов и фруктозанов.

В сырье девясила высокого помимо инулина содержатся свободные сахара (фруктозиды). Инулин растворим в воде, но нерастворим в 96%-м спирте, а фруктозиды растворимы и в воде, и в спирте. Указанное свойство было положено в основу данной методики.

Из сырья получали два извлечения — водное и спиртовое: в первое переходили инулин и фруктозиды, во второе — только фруктозиды.

Определение суммы фруктозидов и фруктозанов. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм. Пробу массой 1,0 г (точная навеска) помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляли 60 мл воды и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 минут. Извлечение, охлажденное до комнатной температуры, фильтровали через ватный тампон в мерную колбу вместимостью 200 мл. Колбу промывали 10 мл воды и фильтровали в ту же мерную колбу. Экстракцию повторяли дважды. К полученному извлечению прибавляли 3 мл 10%-го раствора ацетата свинца, перемешивали и оставляли на 10 минут. Затем прибавляли 3 мл 5%-го раствора натрия гидрофосфата, перемешивали и оставляли на 5 минут. Доводили объем раствора водой до метки. Фильтровали извлечение через бумажный фильтр. 4 мл фильтрата помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл. Доводили водой объем раствора до метки и перемешивали (раствор А). В две мерные колбы вместимостью 25 мл прибавляли по 5 мл 0,1%-го раствора резорцина. В первую колбу помещали 5 мл воды (раствор сравнения), во вторую 5 мл раствора А (анализируемые образцы). Доводили объем растворов в обеих колбах до метки кислотой хлористоводородной и перемешивали. Содержимое колб нагревали на водяной бане при 80 °С в течение 20 минут, охлаждали, перемешивали и доводили водой до метки.

Оптическую плотность анализируемого образца измеряли на спектрофотометре при длине волны (480 ± 2) нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

Содержание суммы фруктозидов и фруктозанов в пересчете на инулин и абсолютно сухое сырье в процентах (X₁) вычисляли по формуле:

$$X_1 = \frac{D \times 200 \times 100 \times 25 \times 100}{498 \times m \times (100 - W)} = \frac{D \times 2500000}{498 \times m \times (100 - W)},$$

где *D* — оптическая плотность анализируемого образца; 498 — удельный показатель поглощения продуктов взаимодействия инулина с резорцином в кислой среде; *m* — масса сырья, г; *W* — влажность.

Определение фруктозидов. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм. Пробу массой 1,0 г (точная навеска) помещали в коническую колбу, вместимостью 250 мл, прибавляли 60 мл 95%-го этанола и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 30 минут. Извлечение, охлажденное до комнатной температуры, фильтровали через ватный тампон в мерную колбу вместимостью 200 мл. Колбу промывали 10 мл воды и фильтровали в ту же мерную колбу. Экстракцию повторяли дважды. К полученному извлечению прибавляли 3 мл 10%-го раствора ацетата свинца, перемешивали и оставляли

на 10 минут. Затем прибавляли 3 мл 5%-го раствора натрия гидрофосфата, перемешивали и оставляли на 5 минут. Доводили объем раствора водой до метки. Фильтровали извлечение через бумажный фильтр. 5 мл фильтрата помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл. Доводили водой объем раствора до метки и перемешивали (раствор А) [4]. Далее поступали так же, как указано при определении суммы фруктозидов и фруктозанов. Содержание суммы фруктозидов в пересчете на инулин и абсолютно сухое сырье в процентах (X₂) вычисляли по формуле:

$$X_2 = \frac{D \times 200 \times 50 \times 25 \times 100}{498 \times m \times (100 - W)} = \frac{D \times 1000000}{498 \times m \times (100 - W)},$$

где *D* — оптическая плотность анализируемого образца; 498 — удельный показатель поглощения продуктов взаимодействия инулина с резорцином в кислой среде; *m* — масса сырья, г; *W* — влажность.

Определение фруктозанов. Содержание фруктозанов (X₃) в пересчете на инулин и абсолютно сухое сырье в процентах вычисляли по разности содержания фруктозидов и фруктозанов (X₁) и фруктозидов (X₂).

Методика 2. Количественное определение суммарного содержания полифруктанов в пересчете на фруктозу.

Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм.

Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, приливали 100 мл 95%-го спирта этилового, присоединяли обратный холодильник и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 минут. После охлаждения извлечение фильтровали. Экстракцию сырья повторяли в тех же условиях дважды этанолом.

К обезжиренному сырью приливали 100 мл воды очищенной и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 минут. Извлечение фильтровали в мерную колбу вместимостью 250 мл. Экстракцию сырья повторяли в тех же условиях дважды водой очищенной. Объем объединенного фильтрата доводили водой очищенной до метки (раствор А).

1 мл раствора А переносили в пробирку вместимостью 25 мл, приливали 1 мл 0,1%-го раствора тиомочевины, 1 мл 1%-го раствора резорцина, 8 мл 95%-го этанола, 9 мл кислоты хлористоводородной концентрированной и нагревали на кипящей водяной бане в течение 8 минут. После охлаждения реакционную смесь переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили объем раствора до метки водой очищенной (раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б определяли при длине волны (480 ± 2) нм.

Для приготовления раствора сравнения 1 мл раствора А переносили в пробирку вместимостью 25 мл, приливали 1 мл 0,1%-го раствора тиомочевины, 1 мл 1%-го раствора резорцина, 9 мл 95%-го этанола, 9 мл

кислоты хлористоводородной концентрированной и нагревали на кипящей водяной бане в течение 8 минут. После охлаждения реакционную смесь переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили объем раствора до метки водой очищенной [3].

Содержание полифруктанов (X) в пересчете на фруктозу в процентах и абсолютно сухое сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{c \cdot K^V \cdot K^G \cdot K^W \cdot 100}{m \cdot 10^6},$$

где c — содержание фруктозы, определенное по градуировочному графику, мкг/мл; K^V — коэффициент разбавления (25000); K^G — коэффициент гидролиза (0,91); K^W — коэффициент влажности ($K^W = \frac{100}{100 - W}$, где W — влажность сырья, %); m — масса навески сырья, г; 10^6 — коэффициент пересчета мкг в г.

Градуировочный график строили в системе координат концентрация фруктозы (мкг/мл) — оптическая плотность (опт. ед.).

Статистическая обработка результатов химического эксперимента проводилась согласно ОФС 42-0111-09 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» и включала проверку однородности выборки, с последующим вычислением базовых статистических показателей, характеризующих вариационные ряды, с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, США) и Excel 2000 (MS Office 2000, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе образцов сырья девясила высокого установлено, что инулин определяется с достаточной точностью. Результаты количественного определения инулина в сырье девясила высокого, собранного осенью 2010 г. в Волгоградской области, по методике 1 и 2 и их метрологические характеристики представлены в табл.

Содержание инулина в корневищах и корнях девясила высокого

№ методики	Содержание инулина, %	Метрологическая характеристика ($n = 12, P = 0,95,$ $t_{P,f} = 2,20$)
1	$23,90 \pm 0,24$	$\Delta X_1 = 0,37$ $S_1 = 0,22$ $S_1^2 = 0,05$ $\varepsilon_1, \% = 0,99$
2	$19,65 \pm 0,48$	$\Delta X_2 = 0,48$ $S_2 = 0,45$ $S_2^2 = 0,21$ $\varepsilon_2, \% = 2,42$

Представленные данные свидетельствуют, что относительная ошибка определения по методике 1 не превышает 1,62 %; относительная ошибка определения по методике 2 не превышает 2,42 %.

Вычисление критерия Фишера при сравнении воспроизводимости двух методик анализа с соответствующими оценками дисперсий ($S_2^2 > S_1^2$) показало, что $F_{\text{выч}} > F(95\%; 5; 5)$, поэтому различие дисперсий S_1^2 и S_2^2 признается статистически значимым с вероятностью 99 % и позволяет сделать заключение о более высокой воспроизводимости методики 2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено сравнение количественного содержания в корневищах и корнях девясила высокого, произрастающего в Волгоградской области, по различным методикам. Данные статистической обработки результатов количественного определения инулина в корневищах и корнях девясила высокого позволяют рекомендовать методику спектофотометрического определения суммарного содержания полифруктанов (методика 2) для количественного анализа данного полифруктозана в предлагаемом сырье.

Полученные результаты количественного определения инулина могут служить убедительными доводами для расширения номенклатуры сырья, используемого для промышленного получения инулина. Кроме того, их целесообразно, на наш взгляд, использовать для модернизации нормативной документации, поскольку в действующей ФС № 73 «Rhizomata et radices Inulae» на данный момент отсутствуют сведения о количественной оценке сырья девясила высокого.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакумов П. А., Козыренко Ю. В. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2008. — № 4. — С. 17—18.
2. Государственный реестр лекарственных средств. Официальное издание: в 2 т. — М.: Медицинский совет, 2009. — Т. 2, ч. 1 — 568 с.; ч. 2. — 560 с.
3. Оленников Д. Н., Танхаева Л. М., Чехирова Г. В., Петров Е. В. // Химия растительного сырья. — 2008. — № 1. — С. 95—99.
4. Шматков Д. А., Беляков К. В., Попов Д. М. // Фармация. — 1998. — № 6. — С. 17—20.
5. Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects // Crit Rev Food Sci Nutr. — 1993. — Vol. 33, № 2. — P. 103—148.

Контактная информация

Митрофанова Ирина Юрьевна — старший преподаватель кафедры фармакогнозии и ботаники, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: I.U.Mitrofanova@yandex.ru