

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В АНАЛИЗЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

© 2003 г. О.М. Маркова, В.А. Карпенко, А.С. Саушкина, Т.Т. Лихота

Пятигорская государственная фармацевтическая академия

В настоящее время в медицинской практике все большее значение придается лекарственным средствам растительного происхождения. Широко используются такие лекарственные формы как жидкие экстракты, настойки.

Целью нашего исследования являлось применение физико-химических методов для анализа экстракта чабреца жидкого и настоек красавки и чемерицы.

Идентификацию действующих веществ настоек и экстракта проводили с помощью хроматографии в тонком слое сорбента на пластинах «Сорбфил» с люминофором. В качестве растворителей использовали системы: для экстракта чабреца-бензол-этил-ацетат-ледяная уксусная кислота (5:5:1); настойки красавки-ацетон-раствор аммиака (9:1); настойки чемерицы-хлороформ-спирт метиловый (8:2). Проявление пятен алкалоидов осуществляли с помощью реактива Драгендорфа (настойки красавки и чемерицы), флавоноидов - раствором хлорида алюминия, тимола – парами иода (экстракт чабреца). Идентификацию проводили по значениям величин R_f пятен, их окраске и в сравнении со стандартными образцами [1.2].

Для обнаружения флавоноидов в экстракте чабреца предложено также использовать ДЕ-вариант дифференциальной спектрофотометрии, основанный на реакции комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом, и позволяющий выделить полосу поглощения комплекса. Дифференциальный спектр экстракта чабреца по положению длинноволнового максимума поглощения совпадает со спектром лютеолина ($\lambda_{\max} 395 \pm 3 \text{ нм}$) – доминирующего компонента флавоноидной фракции чабреца.

Для количественного определения биологически активных веществ в указанных объектах использовали различные варианты фотометрического анализа.

Содержание флавоноидов в экстракте чабреца жидкого определяли дифференциальным спектрофотометрическим ДЕ-методом по реакции комплексообразования с хлоридом алюминия [3]. Основным преимуществом его является возможность избирательного определения флавоноидов в сложных смесях полифенольных соединений, в частности, в извлечениях из растительного сырья, без предварительного разделения. В качестве стандартного вещества предложено использовать лютеолин.

Определение проводили по следующей методике: около 1мл препарата помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили водой до метки. В две мерные колбы вместимостью 25 мл переносили по 3 мл полученного раствора. В первую колбу прибавляли 10 мл спирта этилового 95%, 2 мл 2% раствора хлорида алюминия в спирте этиловом 95% и 0,1 мл кислоты уксусной разведенной, доводили до метки спиртом этиловым 95% и фильтровали (раствор А). Во вторую колбу добавляли 0,1 мл кислоты уксусной разведенной, доводили до метки спиртом этиловым 95% и фильтровали (раствор Б). Через 30 мин измеряли оптическую плотность раствора А при длине волны 395 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор Б.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора ГСО лютеолина, для чего в две мерные колбы вместимостью 25 мл помещали по 1 мл 0.03% раствора ГСО лютеолина и далее поступали, как указано в методике выше.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D_x \times m_{\text{ст}} \times 25}{D_{\text{ст}} \times 3},$$

где D_x - оптическая плотность испытуемого раствора; $D_{\text{ст}}$ - оптическая плотность стандартного раствора ГСО лютеолина;

$m_{\text{ст}}$ - масса ГСО лютеолина в граммах.

Содержание суммы флавоноидов было определено в 20 сериях экстракта, изготовленных на различных фармацевтических фабриках, и составило в пересчете на лютеолин от 0,096% до 0,311%. Фрагмент результатов анализа нескольких серий чабреца экстракта жидкого приведен в табл.1. Относительная ошибка методики при доверительной вероятности 0,95 не превышала $\pm 3,6\%$. Отсутствие систематической ошибки анализа чабреца экстракта подтверждено опытами с добавками ГСО-лютеолина.

Количественное определение суммы алкалоидов настойки красавки в пересчете на атропин основание проводили экстракционно-спектрофотометрическим методом. 2 мл препарата упаривали в выпарительной чашке на кипящей водяной бане досуха, остаток смывали 2мл воды в делительную воронку вместимостью

**Результаты количественного определения биологически активных веществ
в чабреца экстракте жидком и настойке красавки**

Объекты исследования	Найдено %	Метрологические характеристики		
		S _x	Δx	ε _α
Экстракт чабреца жидкий	0,311	0,00273	0,0067	±2,1
	0,124	0,00150	0,0040	±3,0
	0,0774	0,00114	0,0028	±3,6
	0,112	0,00165	0,0040	±3,6
	0,131	0,00171	0,0040	±3,2
Настойка красавки	0,0275	0,000342	0,000880	±3,2
	0,0301	0,000410	0,00105	±3,5
	0,0284	0,000331	0,000852	±3,0
	0,0297	0,000381	0,000980	±3,3
	0,0278	0,000314	0,000806	±2,9

100 мл. Прибавляли 2-3 мл раствора аммиака, экстрагировали 2 раза по 10 мл хлороформа в течение 3 минут. Хлороформное извлечение фильтровали в выпарительную чашку через фильтр с 1 г натрия сульфата безводного. Полученные хлороформные извлечения упаривали на кипящей водяной бане досуха. Сухой остаток переносили с помощью хлороформа в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили до метки хлороформом. 5 мл хлороформного извлечения помещали в делительную воронку, прибавляли 8 мл буферного раствора (pH 5,3-5,5), 2 мл раствора метилового оранжевого, экстрагировали 2 раза по 10 мл хлороформа в течение 3 минут. Хлороформное извлечение фильтровали в мерную колбу вместимостью 25 мл через фильтр с 1 г натрия сульфата безводного, предварительно смоченного хлороформом. Измеряли оптическую плотность полученного извлечения на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 420 нм.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора 0,0116% РСО атропина сульфата, приготовленного аналогично испытуемому раствору (2 мл раствора Б) помещали в делительную воронку, прибавляли 8 мл буферного раствора (pH 5,3-5,5) 2 мл раствора метилового оранжевого и далее по методике.

В качестве раствора сравнения использовали хлороформ.

Содержание суммы алкалоидов (в процентах) в препарате в пересчёте на атропин основание вычисляли по формуле:

$$X\% = \frac{D_x \cdot K \cdot a_0 \cdot 0,05}{D_0 \cdot a_x}$$

D_x – оптическая плотность испытуемого извлечения;
 D_0 – оптическая плотность извлечения раствора РСО атропина основания;

a_x – навеска препарата, мг;

a_0 – навеска РСО атропина сульфата, г;

K – коэффициент пересчета атропина сульфата на атропин основание, 0,862.

Содержание суммы алкалоидов в препарате в пересчёте на атропин основание составило от 0,028 до 0,030%. Полученные результаты количественного определения суммы алкалоидов в пересчёте на атропин основание представлены в табл. 1. Относительные погрешности определения находятся в пределах 3,3 – 3,9%.

В результате проведенных исследований получены достоверные результаты, которые могут быть положены в основу стандартизации экстракта чабреца и настойки красавки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клышев Л.К., Бандюкова В.А., Алюкина Л.С. Флавоноиды растений. - Алма-Ата: Изд-во Наука Каз. ССР, 1978. - 220 с.

2. Маркова О.М. Использование оптических и хроматографических методов для стандартизации растительного сырья и лекарственных препаратов чабреца и тимьяна. Автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук. -Пятигорск, 1997. - 23 с.

3. Химический анализ лекарственных растений под ред. Н.И.Гринкевича. -Москва «Высшая школа», 1983, с.175.

