

ОБГРУНТУВАННЯ КРИТЕРІЇВ ДЛЯ СТАНДАРТИЗАЦІЇ ТА РОЗРОБКА МЕТОДІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ І КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНИХ КОМПОНЕНТІВ ТАБЛЕТОК З ЕКСТРАКТАМИ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН

С. Сур, І. Дідух, Т. Герасимчук, О. Макаренко

Центральна лабораторія з аналізу якості лікарських засобів, Київ

Запропоновано критерії для стандартизації таблеток з екстрактом ехінацеї пурпурної, таблеток з екстрактом шавлії та м'ятно-ментолових таблеток.

Розроблено методики ідентифікації ментону, метилацетату і ментолу (ГРХ), а також кількісного визначення ментолу (ГРХ) в м'ятно-ментолових таблетках; ідентифікації екстракту шавлії (ТШХ), а також ідентифікації та кількісного визначення цинеолу і камфори (ГРХ) та аскорбінової кислоти (ВЕРХ) у таблетках з екстрактом шавлії; ідентифікації екстракту ехінацеї пурпурної (ТШХ) та ментолу (ГРХ), а також кількісного визначення ментолу (ГРХ) та органічних кислот (титриметрія) в таблетках з екстрактом ехінацеї пурпурної.

Ключові слова: екстракт ехінацеї пурпурної, екстракт шавлії, ментон, метилацетат, ментол

Предложены критерии для стандартизации таблеток с экстрактом эхинацеи пурпурной, таблеток с экстрактом шалфея и мятно-ментоловых таблеток.

Разработаны методики идентификации ментона, метилацетата и ментола (ГЖХ), а также количественного определения ментола (ГЖХ) в мятно-ментоловых таблетках; идентификации экстракта шалфея (ТСХ), а также идентификации и количественного определения цинеола и камфоры (ГЖХ) и аскорбиновой кислоты (ВЭЖХ) в таблетках с экстрактом шалфея; идентификации экстракта эхинацеи пурпурной (ТСХ) и ментола (ГЖХ), а также количественного определения ментола (ГЖХ) и органических кислот (титриметрия) в таблетках с экстрактом эхинацеи пурпурной.

Ключевые слова: экстракт эхинацеи пурпурной, экстракт шалфея, ментон, метилацетат, ментол

The criteria for standardization of tablets with echinacea extract, tablets with sage extract and mint-menthol tablets are offered.

The techniques for identification menthon, methylacetate and menthol (GLC), and also quantitative determination of menthol (GLC) in mint-menthol tablets; identification of sage extract (TLC), and also identification and quantitative determination of cineol and camphor (GLC) and ascorbic acid (HPLC) in tablets with sage extract; identification of echinacea extract (TLC) and menthol (GLC), and also quantitative determination of menthol (GLC) and organic acids (titrimetric analysis) in tablets with echinacea extract are developed.

Key words: Echinacea extract, sage extract, menthon, methylacetate, menthol

Для лікування та профілактики різноманітних захворювань у медичній практиці широко застосовують препарати, які містять екстракти лікарських рослин.

Останнім часом популярними стали препарати з екстрактами лікарських рослин у формі таблеток, які застосовують перорально у вигляді ледяників. Вони чинять м'яку дію при лікуванні та профілактиці ангіни легкого перебігу й інших захворювань верхніх дихальних шляхів.

Відповідно до рекомендацій ВООЗ [1, 2], специфікації на рослинні препарати мають включати, крім загальних тестів на

лікарські форми, також тести, за якими проводять ідентифікацію і кількісне визначення складу активних інгредієнтів. Якщо активні компоненти невідомі, специфікації мають включати ідентифікацію та визначення маркерів або для цих цілей слід використовувати хроматографічний профіль (так звані відбитки пальців рослинного препарату).

Метою роботи було обґрунтування критеріїв для стандартизації та розробка методів ідентифікації і кількісного визначення основних активних компонентів таблеток, які застосовують перорально. Склад цих лікарських форм наведено в табл. 1.

Прилади, матеріали дослідження та реактиви

Хроматографування проводили на газовому хроматографі HP 5890 Series II Plus з комп'ютерною програмою збору та обробки даних HP ChemStation Rev.A.03.03 (Х'юлет-Пакард, США) з кварцовою капілярною колонкою 25 м x 0,32 мм з нерухомою фазою FFAP (Х'юлет-Пакард, США) із шаром завтовшки 0,25 мкм при програмуванні її температури від 60 до 220 °С (до 180 °С для м'ятно-ментолових таблеток) зі швидкістю 10 °С/хв (7,5 °С/хв для м'ятно-ментолових таблеток) та тривалістю початкового і кінцевого ізо-

Таблиця 1

Склад досліджуваних таблеток, які застосовують перорально, з екстрактами лікарських трав

Компонент	Таблетки з екстрактом ехінацеї пурпурної	Таблетки з екстрактом шавлії	М'ятно-ментолові таблетки
Екстракт ехінацеї пурпурної	20,0 мг	—	—
Ментол	2,0 мг	—	—
Концентрований екстракт шавлії	—	50,0 мг	—
Олія шавлії	—	6,0 мг	—
М'ятно-ментолова суміш	—	—	7,5 мг
Аскорбінова кислота	—	20,0 мг	—
Ароматизатор із трав	25,0 мг	—	—
Ароматизатор із хвої	15,0 мг	—	—
Стабілізуювальна добавка dto	—	2,5 мг	—
Лимонна кислота зневоднена	—	8,0 мг	—
Сахароза	1468,0 мг	1647,0 мг	1490,0 мг
Сироп глюкози	920,0 мг	—	—
Глюкоза	—	691,5 мг	952,5 мг
Вода	—	75,0 мг	50,0 мг

термічних ділянок 1 та 3 хв відповідно. Швидкість газу-носія (азоту) становила 3,0 мл/хв. Зразки проб по 1 мкл вводили в хроматограф за допомогою мікрошприца (Гамільтон, США) за температури випаровувача 180 °С (200 °С для м'ятно-ментолових таблеток) і діленні потоку 1:4. Використовували полум'яно-іонізаційний детектор за температури 230 °С (220 °С для м'ятно-ментолових таблеток) з піддувкою газом-носієм 30 мл/хв, швидкістю водню 30 мл/хв і повітря 300 мл/хв.

Для потенціометричного титрування використовували мікробюретку на 5 мл (Вітег, Німеччина) та рН-метр Ф-72 (Бекман, США) з комбінованим скляним електродом. Калібрування електрода проводили за допомогою стандартних буферних розчинів рН 4,00, рН 7,00 та рН 10,01 (Бекман, США). Титрування проводили 0,1 М розчином гідроксиду натрію.

Визначення аскорбінової кислоти здійснювали на рідинному хроматографі HP 1050 (Hewlett Packard, США) з комп'ютерною програмою збору та обробки даних HP ChemStation, з ультрафіолетовим діодно-матричним детектором. Розділення проводили на колонці 200 x 4,6 мм HP APS Hypersil, розмір часток становив 5 мкм. Для приготування рухомої фази використовували натрію гідрофосфат, ацетонітрил для ВЕРХ (Алдріч, США), воду для ВЕРХ, ортофосфору кислоту.

Ментол, метилацетат, камфору, цинеол, ментон, L-аскорбінову кислоту (Алдріч, США) використовували як стандартні речовини, метилсаліцилат та гексанол (Алдріч, США) – як внутрішні стандарти.

Для тонкошарової хроматографії (ТШХ) використовували платівки Кизельгель Г₂₅₄ (Мерк, Німеччина), реактиви і розчинники фірм Мерк та Флука (Німеччина).

Розробку й апробацію методів ідентифікації та визначення проводили на зразках таблеток з екстрактом ехінацеї пурпурної с.5025, б/с (термін придатності 9,97) та б/с (термін придатності 11,96); таблеток з екстрактом шавлії с. 6053, L 43415 та б/с (термін придатності 11,96); м'ятно-ментолових таблеток б/с in bulk та таблеток плацебо б/с, наданих фірмою-виробником.

Експериментальна частина

Згідно із загальними вимогами до таблеток [3–5], авторами запропоновано такі критерії для стандартизації досліджуваних таблеток:

1) зовнішній вигляд (на основі візуального огляду зразків таблеток);

2) відхилення від середньої маси. Оскільки для таблеток масою понад 250 мг загальною вимогою [3–5] є відхилення від середньої маси не більше 5% і середня маса досліджуваних таблеток становить приблизно 2,5 г, рекомендовано користуватися цими вимогами для контролю якості досліджуваних таблеток;

3) розпадність. Згідно із загальними вимогами на таблетки та результатами визначення розпадності в зразках досліджуваних таблеток запропоновано встановити межі – не більше 15 хв.

4) ідентифікація та вміст основних активних речовин. Вимоги встановлювали на основі літературних та експериментальних даних. Обґрунтування цих вимог наведено в наступних розділах.

Ідентифікація екстракту ехінацеї пурпурної та екстракту шавлії методом тонкошарової хроматографії (ТШХ)

Ідентифікацію екстракту ехінацеї пурпурної та екстракту шавлії відповідно в таблетках з екстрактом ехінацеї пурпурної та екстрактом шавлії проводили за допомогою ТШХ методом "відбитків пальців", використовуючи за стандарт вихідний екстракт ехінацеї пурпурної або шавлії відповідно.

Наявність у досліджуваних препаратах великої кількості глюкози та сахарози не дозволила використовувати полярні розчинники (водно-етанолові або водно-метанолові розчини) для екстрагування компонентів екстрактів зі зразків таблеток. У цьому випадку розчини зразків містили велику кількість цукрів, які в разі нанесення їх на платівку і висушування її перед аналізом утворювали карамель і заважали рухомій фазі взаємодіяти з компонентами відповідного екстракту. Тому для підвищення селективності екстракції та зменшення розчинення цукрів за екстрагент було обрано розчинник середньої полярності – етилацетат.

Величини наважок зразка і стандарту підбиралися для одержання однакових концентрацій у розчинах зразка і стандарту.

Для оцінювання селективності методу паралельно проводили хроматографічне розділення розчинів зразка (таблеток з екстрактами ехінацеї пурпурної або шавлії), стандартних розчинів (вихідного екстракту ехінацеї пурпурної або шавлії) та плацебо (таблеток без відповідних екстрактів).

За рухомих фаз використовували систему розчинників вода:оцтова кислота 98%:етилацетат (20:20:60) для таблеток з екстрактом ехінацеї пурпурної та мурашина кислота:оцтова кислота 98%:вода:етилацетат (15:15:36:134) для таблеток з екстрактом шавлії. Після проходження фронту суміші розчинників відстані 10 см, пластинки висушували на повітрі.

Перед дослідженням таблеток з екстрактом шавлії пластинку висушували в сушильній шафі за температури 100–105 °С та обприскували 1% розчином алюмінію хлориду в метанолі.

При дослідженні таблеток з екстрактом ехінацеї пурпурної, після проходження фронту рухомої фази пластинку продилялися під ультрафіолетовим світлом з довжиною хвилі 365 нм.

ГРХ: Ідентифікація ментону, метилацетату та ментолу (в м'ятно-ментолових таблетках), ментолу (в таблет-

ках з екстрактом ехінацеї пурпурної) та цинеолу і камфори (в таблетках з екстрактом шавлії). Кількісне визначення ментолу (або цинеолу і камфори в таблетках з екстрактом шавлії).

Маркери для ідентифікації основних біологічно активних речовин рослинних компонентів досліджуваних таблеток обирали згідно з літературними даними [3, 6].

Для ідентифікації основних активних речовин рослинних компонентів таблеток одночасно з їх кількісним визначенням використовували метод газо-рідинної хроматографії (ГРХ). В оглядах літературних даних щодо методів газо-хроматографічного розділення сумішей компонентів ефірних олій [7, 8] зазначається, що краще розділення сумішей терпеноїдів може бути досягнуто на колонках з полярною нерухою фазою у разі програмування температури колонки. Тому ми розробили метод визначення ментону, метилацетату та ментолу; ментолу; цинеолу та камфори відповідно для м'ятно-ментолових таблеток, таблеток з екстрактом ехінацеї пурпурної і таблеток з екстрактом шавлії на полярній колонці FFAP у режимі програмування її температури.

Для запобігання впливу сахарози та глюкози, які у великій кількості містяться в досліджуваних зразках, проводили попереднє виділення визначуваних компонентів із зразків шляхом перегонки з водяною парою в апараті для перегонки [9]. Було визначено, що оптимальна тривалість перегонки складала 120–150 хв.

Експериментальні дослідження характеристик кількісного визначення з використанням двох внутрішніх стандартів (гексанолу та метилсаліцилату) показали, що використання метилсаліцилату дає змогу одержувати більш відтворювані результати.

Під час вибору внутрішнього стандарту (метилсаліцилат) виходили з того, що на хроматограмах модельних розчинів не виявлено піків, які б могли перетинатися з піком метилсаліцилату, а час утримання метилсаліцилату при цьому має досить близьке значення до аналогічних характеристик визначених компонентів для забезпечення кількісного визначення з необхідною точністю.

Порівняння складу летких речовин, виділених з відповідних таблеток, та плацебо показало, що останнє не містить ароматизаторів або інших летких речовин, які б заважали ідентифікації та визначенню активних компонентів ефірних олій.

Приготування розчину внутрішнього стандарту

У мірну колбу місткістю 50 мл (100 мл при дослідженні м'ятно-ментолових таблеток) вміщували точну наважку приблизно 0,1 г (0,15 г при дослідженні м'ятно-ментолових таблеток) метил-

саліцилату (внутрішнього стандарту) та 30 мл гексану. Розчин перемішували та розбавляли гексаном до мітки.

Приготування модельного розчину

У мірну колбу місткістю 25 мл вміщували точні наважки відповідних стандартних речовин (0,04 г ментолу та по 0,01 г ментону та метилацетату при дослідженні м'ятно-ментолових таблеток; 0,05 г цинеолу та 0,05 г камфори при дослідженні таблеток з екстрактом шавлії; 0,05 г ментолу при дослідженні таблеток з екстрактом ехінацеї пурпурної) та додавали 10 мл розчину внутрішнього стандарту. Перемішували і розбавляли розчином внутрішнього стандарту до мітки.

Приготування розчину зразка

Точну наважку приблизно 5 г (2,5 г при дослідженні м'ятно-ментолових таблеток) подрібнених таблеток, 30 г натрію хлориду та приблизно 100 мл води вміщували в колбу зі шліфом місткістю 500 мл, яку приєднували до апарата для перегонки [9]. У приймач апарата додавали воду до максимального рівня і вміщували 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту. Відгонку ефірної олії проводили протягом 150 хв (120 хв при дослідженні м'ятно-ментолових таблеток).

Після закінчення відгонки брали по 1 мл розчину зразка та модельного розчину і хроматографували в наведених вище умовах, повторюючи цей процес тричі. Хроматограми, одержані для модельних розчинів та розчинів зразків, подано на рис. 1–3 (див. у наступному номері).

Результати тесту на придатність хроматографічної системи для досліджуваних таблеток подано в табл. 2. На основі цих даних за критерії тесту для оцінки хроматографічної системи запропоновано такі показники: кількість теоретичних тарілок, розрахована за піком ментолу (цинеолу при дослідженні таблеток з екстрактом шавлії), має бути не меншою 30 000 (40 000 при дослідженні м'ятно-ментолових таблеток); коефіцієнт розділення між піками ментолу (цинеолу при дослідженні таблеток з екстрактом шавлії) та інших речовин – не менший 1,5;

коефіцієнт симетрії піка ментолу (цинеолу та камфори при дослідженні таблеток з екстрактом шавлії) – не більший 1,8 (1,5 при дослідженні таблеток з екстрактом шавлії). Відносне стандартне відхилення відношень площ піків ментолу (цинеолу та камфори при дослідженні таблеток з екстрактом шавлії) та внутрішнього стандарту на повторних хроматограмах стандартного розчину та розчину

зразка має бути не більшим 2% (3% при дослідженні таблеток з екстрактом шавлії).

Вміст відповідних речовин розраховували за співвідношенням площ їх піків та піків внутрішнього стандарту на хроматограмах модельного розчину та розчину зразка.

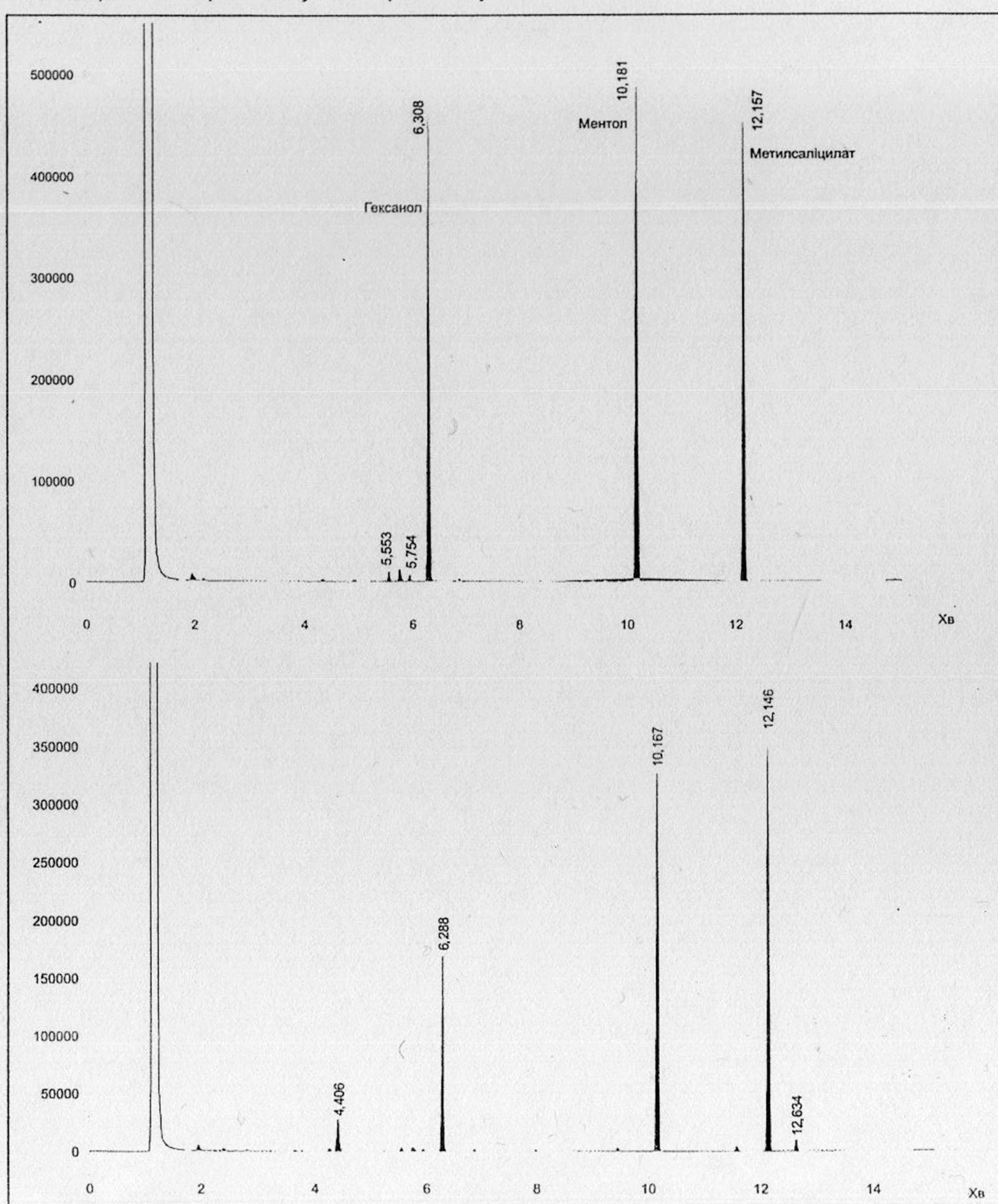


Рис. 1. Хроматограма відповідного модельного розчину (зверху) та суміші легких речовин, виділених із таблеток з екстрактом ехінацеї пурпурної б/с (термін придатності 11.96), і внутрішнього стандарту (знизу)

Таблиця 2

Результати тесту на придатність хроматографічної системи для розробленого ГРХ-методу визначення основних активних компонентів ефірних олій досліджуваних таблеток, що їх застосовують перорально

Досліджуваний зразок	Кількість теоретичних тарілок	Коефіцієнт симетрії піка	Коефіцієнт розділення із сусіднім піком
Таблетки з екстрактом ехінацеї пурпурної			
– за піком ментолу	406715	1,49	30,56
– за піком метилсаліцилату	543670	1,52	30,56
Таблетки з екстрактом шавлії			
– за піком цинеолу	60301	1,07	2,21
– за піком камфори	248408	1,36	16,7
– за піком метилсаліцилату	525507	1,69	17,45
М'ятно-ментолові таблетки			
– за піком ментону	201358	1,10	6,26
– за піком метилацетату	236386	0,93	11,79
– за піком ментолу	243581	1,59	9,30
– за піком метилсаліцилату	503366	1,31	10,27

Продовження в наступному номері

ОБГРУНТУВАННЯ КРИТЕРІЇВ ДЛЯ СТАНДАРТИЗАЦІЇ ТА РОЗРОБКА МЕТОДІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ І КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНИХ КОМПОНЕНТІВ ТАБЛЕТОК З ЕКСТРАКТАМИ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН

С. Сур, І. Дідух, Т. Герасимчук, О. Макаренко

Центральна лабораторія з аналізу якості лікарських засобів, Київ

◀ Закінчення. Початок у № 1

Кількісне визначення вмісту органічних кислот у таблетках з екстрактом ехінацеї пурпурної титриметричним методом

Для кількісної оцінки вмісту екстракту ехінацеї пурпурної запропоновано використовувати за маркери органічні кислоти. Вміст останніх у перерахунку на яблучну кислоту визначали за допомогою потенціометричного титрування 0,1 М розчином натрію гідроксиду.

При цьому криві титрування не мали чітких перегинів, а диференційні криві титрування – чітких піків, за якими можна було б надійно визначити точку еквівалентності. Це можна пояснити наявністю в екстракті ехінацеї пурпурної складної суміші кислот і фенолів з різними константами іонізації, що призводить до "розмивання" перегинів. Тому рекомендується така методика для визначення органічних кислот у таблетках з екстрактом ехінацеї пурпурної: точну наважку приблизно 15,0 г подрібнених таблеток уміщували в колбу місткістю 100 мл та розчиняли шляхом нагрівання в 30–40 мл води. Одержаний розчин титрували 0,1 М розчином натрію гідроксиду, точку еквівалентності визначали потенціометрично до досягнення рН розчином значення 8,00.

Ідентифікація та кількісне визначення аскорбінової кислоти в таблетках з екстрактом шавлії

Аскорбінову кислоту зазвичай визначають за допомогою окисно-відновного титрування [3, 5, 10] або ВЕРХ [10]. Проведено визначення та зіставлення результатів визначення аскорбінової кислоти за допомогою титрування 0,1 М розчином йоду [3, 10], 0,01 М розчином йодиду калію [5].

Надані зразки плацебо містили аскорбінову кислоту, що перешкоджало оцінюванню впливу матриці на результат визначення. Проте вдалося встановити, що екстракт шавлії не заважає титриметричним методам визначення аскорбінової кислоти. Речовини, що

містяться в ньому, взаємодіють з йодом дуже повільно, тому титрування проводили доти, доки забарвлення індикатора не зникало протягом 1 хв.

Паралельно проводили визначення аскорбінової кислоти методом ВЕРХ за наведеною нижче методикою, розробленою на основі методу Фармакопеї США [10].

Найоптимальніший склад рухомої фази був таким: суміш 0,005 М розчину NaH_2PO_4 з рН 7,0 та ацетонітрилу (25:75). Шляхом дослідження спектрів піка аскорбінової кислоти при використанні цієї рухомої фази знайдено оптимальне значення довжини хвилі 266 нм. Швидкість рухомої фази становила 1,0 мл/хв.

Приготування стандартного розчину L-аскорбінової кислоти

У мірну колбу місткістю 100 мл зі світлозахисного скла вміщували точну наважку приблизно 60 мг стандартного зразка L-аскорбінової кислоти та 30 мл 0,2 М розчину хлористоводневої кислоти у свіжопрокип'яченій дистильованій воді. Вміст колби ретельно перемішували до повного розчинення наважки та розбавляли до мітки 0,2 М розчином хлористоводневої кислоти. 5,0 мл одержаного розчину переносили в мірну колбу місткістю 100 мл і доводили до мітки 0,2 М розчином згаданої кислоти.

Приготування розчину стандарту

У мірну колбу місткістю 100 мл зі світлозахисного скла вміщували точну наважку приблизно 7,5 г подрібнених таблеток і розчиняли у 20 мл 0,2 М розчину хлористоводневої кислоти в свіжопрокип'яченій дистильованій воді. Розбавляли до мітки 0,2 М розчином хлористоводневої кислоти. 5,0 мл одержаного розчину переносили в мірну колбу місткістю 100 мл і доводили до мітки 0,2 М розчином хлористоводневої кислоти. Одержаний розчин фільтрували через мембранний фільтр з діаметром пор 0,45 мкм, видаляючи перші 20 мл фільтрату.

По 20 мкл стандартного розчину та розчину зразка вводили в колонку за до-

помогою петлястого інжектора та хроматографували в наведених вище умовах, одержуючи по 6 хроматограм для кожного розчину. На основі отриманих даних визначали вміст аскорбінової кислоти в зразках таблеток з екстрактом шавлії.

Ефективність системи, розрахована за піком L-аскорбінової кислоти, на хроматограмі стандартного розчину становила 18 996 теоретичних тарілок, коефіцієнт симетрії піка – 1,185. Виходячи з одержаних даних, запропоновано встановити як мінімальні вимоги тесту на придатність хроматографічної системи такі характеристики: кількість теоретичних тарілок – не менше ніж 1500, коефіцієнт симетрії піка – не більше ніж 1,5, відносне стандартне відхилення площ піків L-аскорбінової кислоти серії з 5 хроматограм для розчину стандарту та зразка – не більше ніж 2,0%.

Результати дослідження та їх обговорення

Ідентифікація екстракту ехінацеї пурпурної й екстракту шавлії методом ТШХ

На хроматограмі досліджуваного зразка таблеток з екстрактом шавлії спостерігали чотири основні плями: дві – з жовтою флуоресценцією (R_f 0,55 та R_f 0,75) та дві – з блакитною (R_f 0,82 та R_f 0,95). Були й інші плями з менш інтенсивною блакитною, зеленувато-блакитною та жовтою флуоресценцією.

На хроматограмі досліджуваного зразка таблеток з екстрактом ехінацеї пурпурної спостерігали дві плями з інтенсивною флуоресценцією (R_f 0,57 та R_f 0,98) та дві плями з менш інтенсивною (R_f 0,76 та R_f 0,88).

Ідентифікація ментону, метилацетату та ментолу (в м'ятно-ментолових таблетках), ментолу (в таблетках з екстрактом ехінацеї пурпурної) та цинеолу і камфори (в таблетках з екстрактом шавлії) методом ГРХ

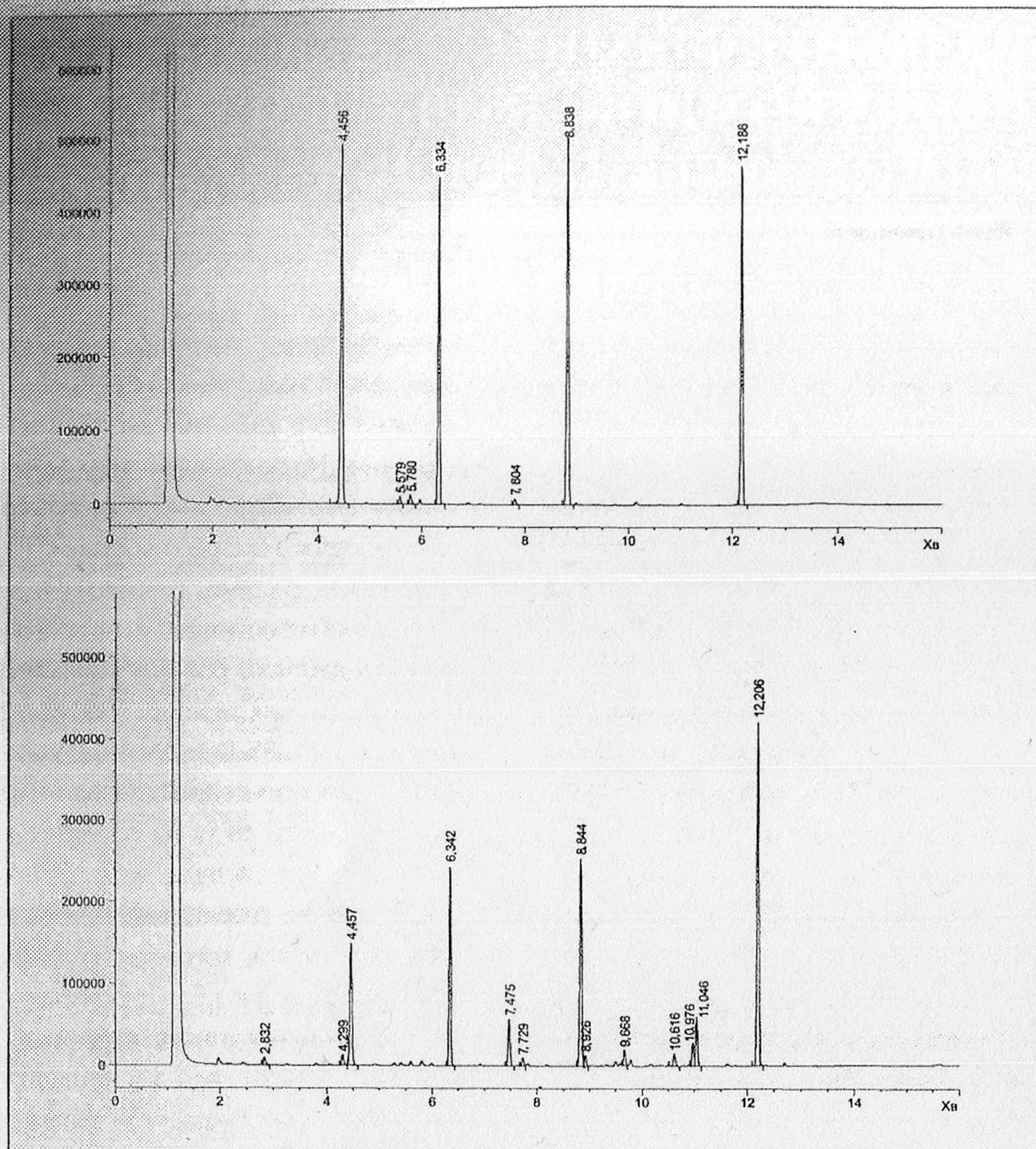


Рис. 2. Хроматограма відповідного модельного розчину (зверху) та суміші легких речовин, виділених із таблеток з екстрактом шавлії с.6053, і внутрішнього стандарту (знизу)

Ідентифікацію проводили одночасно з кількісним визначенням. Час утримання піка речовини, яку визначають (ментону, метилацетату та ментолу в м'ятно-ментолових таблетках, ментолу в таблетках з екстрактом ехінацеї пурпурної та цинеолу і камфори в таблетках з екстрактом шавлії), на хроматограмах розчинів зразків відповідав часу утримання піка цієї речовини на хроматограмах модельних розчинів.

Кількісне визначення ментолу в таблетках з екстрактом ехінацеї пурпурної методом ГРХ

Середнє значення вмісту ментолу в 1 таблетці з ехінацією пурпурною с.5025 складало 1,33 мг за відносного стандартного відхилення 1,094%. Вміст ментолу в зразках б/с (термін придатності 11,96) та б/с (термін придатності 9,97) складав 1,58 та 1,07 мг у таблетці відповідно. Одержані результати не вкладалися в запропоновані нами межі $\pm 10\%$ від номінального значення 2,0 мг в 1 таб-

летці, тобто 1,8–2,2 мг в 1 таблетці.

Кількісне визначення цинеолу та камфори в таблетках з екстрактом шавлії методом ГРХ

Середнє значення вмісту цинеолу складало 0,715 мг в 1 таблетці, камфори – 1,133 мг в 1 таблетці за відносного стандартного відхилення 1,83 та 1,61% відповідно. У серіях L43415 та б/с (термін придатності 11,96) результати визначення цинеолу склали 0,544 та 0,310 мг в 1 таблетці відповідно, камфори – 1,06 та 0,599 мг в 1 таблетці відповідно.

Згідно з літературними даними [11, 12], вміст цинеолу та камфори в олії шавлії коливається в широких межах (1–30% та 0,5–36% відповідно). У зразках ефірної олії шавлії, наданих фірмою-виробником, цинеол та камфора містилися в кількостях 15–18 та 21–24% відповідно.

На основі літературних і власних даних було запропоновано встановити лише нижню межу вмісту цинеолу та камфори.

Французька фармакопея [13] встановлює нижню межу вмісту цинеолу та камфори в олії шавлії – 11% для кожного компонента і, згідно із сертифікатами на надані зразки олії шавлії, їх склад був дуже близьким до описаного [13]. Крім того, реальний вміст камфори в олії і таблетках в середньому в 1,4 раза більший, ніж цинеолу. До того ж, під час виробництва таблеток при високій температурі утворюється карамель і можливі часткові втрати олії шавлії (приблизний коефіцієнт поправки 0,7). Крім того, необхідно встановити межі визначення 10%, тобто коефіцієнт нижньої межі 0,9. Таким чином, вміст цинеолу повинен становити не менше ніж $6 \cdot 0,11 \cdot 0,7 \cdot 0,9 = 0,4$ мг в 1 таблетці. Вміст камфори має бути не менше ніж $6 \cdot 0,11 \cdot 1,4 \cdot 0,7 \cdot 0,9 = 0,6$ мг в 1 таблетці. Одержані результати вкладалися у запропоновані межі вмісту цинеолу та камфори в таблетках з екстрактом шавлії.

Кількісне визначення ментолу в м'ятно-ментолових таблетках методом ГРХ

Згідно з літературними даними [3, 14], вміст ментону, метилацетату та ментолу в олії м'яти перцевої коливається в широких межах (6–32%, 2,8–14% і 20–55%). У зразку м'ятно-ментолової суміші, наданої фірмою-виробником, ментон, метилацетат та ментол містилися в кількостях 7,8, 2,5 та 69,1% відповідно. Отже, було запропоновано проводити лише ідентифікацію основних компонентів м'ятних олій – ментону та метилацетату; а для ментолу – ідентифікацію і визначення, встановивши нижню межу вмісту ментолу. При цьому брали до уваги таке: згідно із сертифікатом, нижня межа вмісту ментолу в м'ятно-ментоловій суміші становить 40%; під час виробництва таблеток карамель утворюється за високої температури і можлива часткова втрата м'ятно-ментолової суміші (приблизний коефіцієнт поправки 0,7); крім цього, необхідно встановити межі визначення 10%, тобто коефіцієнт нижньої межі 0,9. Таким чином, вміст ментолу повинен становити не менше ніж $7,5 \cdot 0,4 \cdot 0,7 \cdot 0,9 = 1,9$ мг в 1 таблетці.

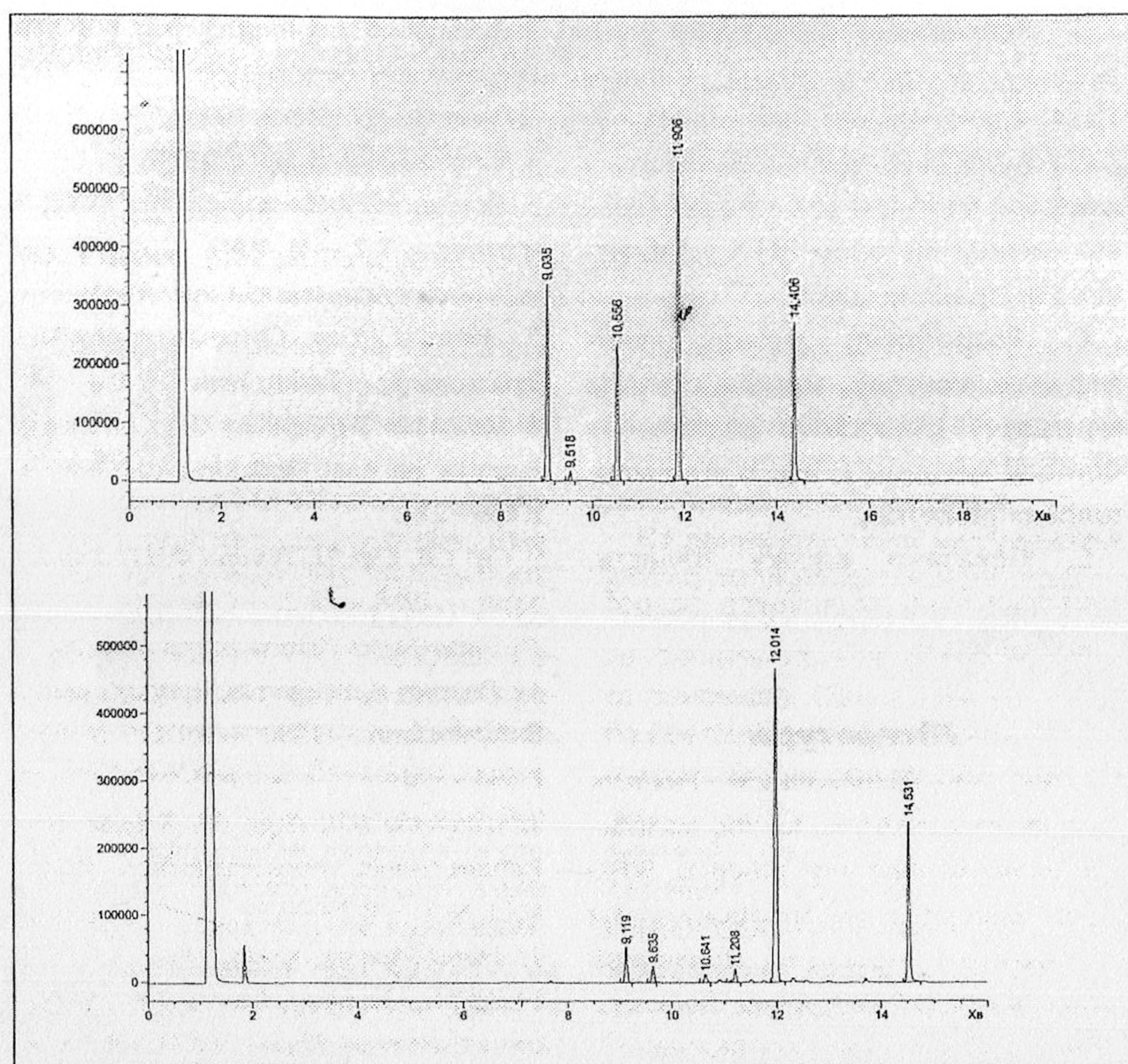


Рис. 3. Хроматограма відповідного модельного розчину (зверху) та суміші легких речовин, виділених з м'ятно-ментолових таблеток с. Т12072, і внутрішнього стандарту (знизу)

Валідація розробленого методу ГРХ

Розроблений метод ідентифікації та кількісного визначення основних активних компонентів ефірних олій у досліджуваних таблетках є точним (відносне стандартне відхилення результатів визначення вмісту досліджуваних речовин не перевищувало 2,0%), селективним (хроматограми сумішей легких речовин, виділених із плацебо та відповідного екстракту, не містили піків речовин, які мали б близький час утримання із цією величиною для визначуваного компонента) та лінійним (коефіцієнт лінійності становив 0,99993, 0,99977 та 0,99951 для таблеток з екстрактом ехінацеї пурпурної, з екстрактом шавлії та м'ятно-ментолових таблеток відповідно).

Кількісне визначення вмісту ор-

ганічних кислот у таблетках з екстрактом ехінацеї пурпурної титриметричним методом

Вміст органічних кислот в екстракті ехінацеї пурпурної в перерахунку на яблучну кислоту становив 3,47%. Середнє значення вмісту органічних кислот у перерахунку на яблучну в таблетках з екстрактом ехінацеї пурпурної с.5025, б/с (термін придатності 11,96) та б/с (термін придатності 9,97) складало відповідно 0,793 мг в 1 таблетці, 0,878 мг в 1 таблетці та 0,861 мг в 1 таблетці.

Межі вмісту органічних кислот у таблетках встановлювали з урахуванням вмісту кислот в екстракті ехінацеї пурпурної і таблеток з ехінацеєю пурпурною (не менше ніж 0,5 мг в 1 таблетці). Отже, одержані результати визначення вмісту органічних кислот

у перерахунку на яблучну вкладалися в запропоновані межі.

Ідентифікація та кількісне визначення аскорбінової кислоти в таблетках з екстрактом шавлії методом ВЕРХ

Ідентифікацію аскорбінової кислоти проводили одночасно з кількісним визначенням. Час утримання піка L-аскорбінової кислоти на хроматограмі розчину зразка відповідав часу утримання піка L-аскорбінової кислоти на хроматограмі стандартного розчину.

Результати визначення вмісту аскорбінової кислоти в плацебо на таблетках з екстрактом шавлії, одержані різними методами, подано в табл. 3.

Із табл. 3 видно, що результати, одержані за двома методиками титрування, добре корелюють між собою, але є дещо завищеними порівняно з результатами, одержаними методом ВЕРХ. Це можна пояснити наявністю в таблетках речовин, які можуть окислюватись у процесі титрування (наприклад, стабілізуювальна добавка dto). Таким чином, метод окисно-відновного титрування в даному випадку недостатньо селективний.

Тому було запропоновано проводити ідентифікацію та кількісне визначення аскорбінової кислоти в таблетках з екстрактом шавлії за допомогою методу ВЕРХ за методикою, розробленою на основі методики Фармакопеї США [10]. Така методика є відтворюваною (відносне стандартне відхилення шести паралельних проб не перевищувало 2,0%) та лінійною (коефіцієнт лінійності становив 0,9999).

Запропоновані межі вмісту аскорбінової кислоти визначені з урахуванням передбаченого надлишку на старіння. Згідно з Фармакопеєю США [10], межі вмісту аскорбінової кисло-

Таблиця 3

Номер серії	Йодометричне титрування		Йодатометричне титрування		ВЕРХ	
	Знайдено, мг в 1 таблетці	%, від номінального	Знайдено, мг в 1 таблетці	%, від номінального	Знайдено, мг в 1 таблетці	%, від номінального
Плацебо (без екстракту шавлії)	23,36	116,8	22,90	114,5	19,79	98,95
б/с (терм. прид. 11.96)	23,28	116,4	23,38	116,90	20,07	100,35
L 4341 5	23,86	119,3	24,79	123,95	19,87	99,35
6053	23,78	118,9	22,89	114,45	20,34	101,7

ти становлять 90–150% від номінального значення. Проте в більшості випадків цей надлишок не перевищує 15%. Отже, для таблеток з екстрактом шавлії пропонуються межі вмісту аскорбінової кислоти від 90 до $110\% + 15\% = 125\%$ від номінального значення 20 мг в 1 таблетці, тобто 18–25 мг. Одержані значення вкладалися в запропоновані межі вмісту аскорбінової кислоти в таблетках з екстрактом шавлії.

Висновки

1. Запропоновано критерії для стандартизації таблеток з екстрактом ехінацеї пурпурної, таблеток з екстрактом шавлії та м'ятно-ментолових.

2. Розроблено методики ідентифікації екстракту ехінацеї пурпурної методом ТШХ, ідентифікації та кількісного визначення ментолу методом ГРХ та кількісного визначення органічних кислот у перерахунку на яблучну кислоту методом потенціометричного титрування в таблетках з екстрактом ехінацеї пурпурної.

3. Розроблено методики ідентифікації екстракту шавлії методом ТШХ, ідентифікації олії шавлії та кількісного визначення цинеолу і камфори методом ГРХ та аскорбінової кислоти методом ВЕРХ у таблетках з екстрактом шавлії.

4. Розроблено методи ідентифікації ментону, метилацетату та ментолу і кількісного визначення ментолу методом ГРХ в м'ятно-ментолових таблетках.

5. Показано високу точність, відтворюваність та лінійність розроблених методик.

Література

1. *GMP for Pharmaceutical Products*. Supplementary guidelines for the manufacture of herbal medicinal products. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Thirty-fourth Report. WHO TRS 863, Annex 8. Geneva, 1996.
2. *Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines*. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Thirty-fourth Report. WHO TRS 863, Annex 11. Geneva, 1996.
3. *Deutsches Arzneibuch* 1996.
4. *European Pharmacopoeia* 1997.
5. *Государственная фармакопея СССР*, XI издание. — Т. 2. — М., 1989.
6. *Deutscher Arzneimittel-Codex* 1986.
7. *Witte L.* // *Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. — Berlin, 1986. — P. 134–145.
8. *Shibamoto T.* // *Capillary Gas Chromatogr. Essential oil Anal.-Heidelberg s.a.*, 1987. — P. 259–274.
9. *Сур С.В., Сур Л.І., Тулюна Ф.М.* // *Фармац. журн.* — 1988. — № 2. — С. 46–50.
10. *United States Pharmacopoeia* 24, 2000.
11. *Pecorari P., Melegari M., Vampa G. et al* // *Bull.chim.farm.* — 1980. — Vol. 119, № 10. — P. 584–590.
12. *Lawrence B.M., Hogg J.W., Terhune S.J.* // *Parfums, cosmet, savons Frangrances.*—1971. — Vol.1, № 1. — P. 256–259.
13. *French Pharmacopoeia*, 1991.
14. *Gilli G., Garnerio J., Rachine Ph.* // *Parfum, cosmet., aromes.* — 1986. — Vol. 71. — P. 79–86.