

УДК 543.544.615.07

*С.В.СУР, канд. хім. наук, О.Г.МАКАРЕНКО, канд. хім. наук,
Т.В.ГЕРАСИМЧУК, канд. фармац. наук*

Центральна лабораторія з аналізу якості лікарських засобів

**ОБҐРУНТУВАННЯ КРИТЕРІЇВ ДЛЯ СТАНДАРТИЗАЦІЇ І РОЗРОБКА
МЕТОДІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ГОЛОВНИХ
АКТИВНИХ КОМПОНЕНТІВ ШЛУНКОВОГО ЗБОРУ ЗА ДОПОМОГОЮ
ГАЗОРІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ**

Шлунковий збір являє собою суміш семи видів рослинної сировини. Його фармакологічну дію обумовлюють плоди фенхелю (48,2 %), корінь ангеліки (21,8 %) та корінь горечавки (9,7 %). Квітки ромашки, трава деревію, корінь солодки і трава чабрецю є допоміжними компонентами, що містяться у зборі в кількості по 5 %.

Згідно з літературними даними, головними активними компонентами більшості вищезазначених видів рослинної лікарської сировини є ефірні олії. Головними складовими ефірної олії плодів фенхелю є анетол (64—86 %) та фенхон (1—23 %) [1, 4, 9], кореню ангеліки D- α -феландрен [5]. Корінь горечавки містить поліридоїдні гіркі глікозиди — як головний компонент — 2—3 % гентіопікрозиду (гентіопікрину), свертіамарин та сверозид [8]. В ефірній олії деревію з Угорщини [7] було виявлено α -пінену — 5,1 %, β -пінену — 23,0, лімонену — сліди, 1,8-цінеолу — 1,3, борнеолу — 3,3, терпінеолу — 0,8, борніацетату —

© Колектив авторів, 2002

сліди, каріофілену 10,9, азулену — 25,4 % та ін. Корінь солодки містить лише сліди ефірної олії [1].

Найзручнішим та найефективнішим методом для аналізу сумішей ефірних олій та інших летких речовин на сьогодні вважають газорідинну хроматографію (ГРХ) з використанням капілярних колонок з полярними нерухомими фазами та програмуванням температури колонки [2].

Метою даної роботи була розробка методу, який би дав можливість надійно ідентифікувати та кількісно оцінити вміст головних активних компонентів ефірної олії шлункового збору за допомогою методу ГРХ.

Експериментальна частина

Хроматографування проводили на газовому хроматографі HP 5890 Series II Plus з комп'ютерною програмою збирання та обробки даних HP Chem-Station Rev.A.03.03 («Х'юлет-Пакард», США) з кварцевою капілярною колонкою 25 м · 0,32 мм з нерухою фазою FFAP («Х'юлет-Пакард», США) з шаром завтовшки 0,25 мкм при програмуванні її температури від 60 до 220 °С зі швидкістю 10 °С/хв і тривалістю початкового та кінцевого ізотермічних ділянок 1 та 4 хв відповідно. Швидкість газу-носія (азоту) становила 3,0 мл/хв. Зразки проб по 1 мкл вводили у хроматограф за допомогою мікрошприца («Гамільтон», США) при температурі випаровувача 180 °С і поділі потоку 1:4. Використовували полуменево-іонізаційний детектор при температурі 230 °С з піддуванням газом-носієм 30 мл/хв, швидкістю водню 30 мл/хв і повітря 300 мл/хв.

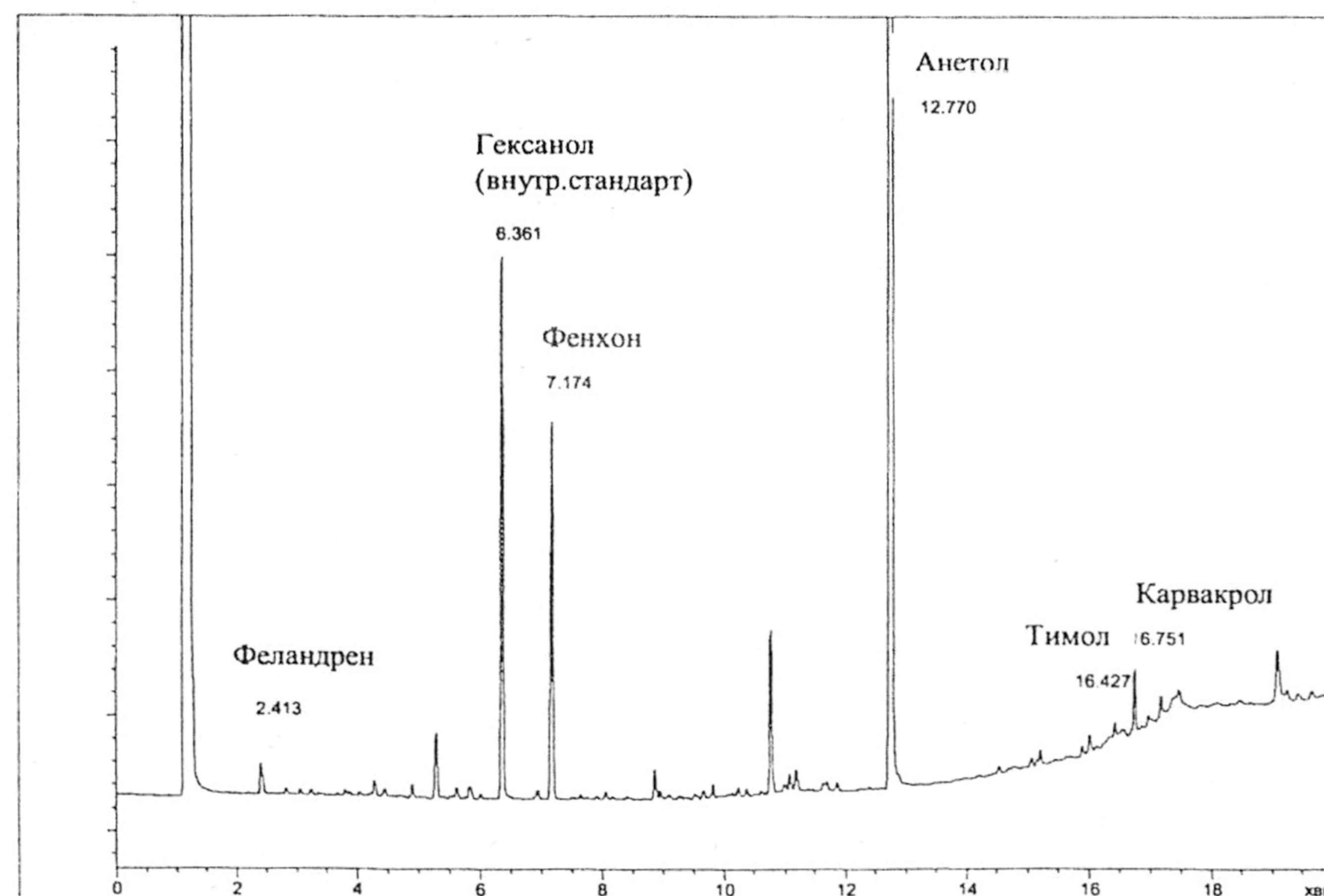
Як стандартні речовини використовували анетол, фенхон, тимол та карвакрол («Алдріч», США), як внутрішній стандарт — гексанол («Алдріч», США).

Розробку та апробацію методів ідентифікації та кількісного визначення проводили на зразках шлункового збору с. Ch.B.01036, наданих фірмою-виробником.

Результати та їх обговорення

Ідентифікація. Для розробки методу ідентифікації та обґрунтування її критеріїв ми провели порівняльне вивчення складу ефірних олій, виділених як з кожного компонента збору, так і з самого препарату.

Було проведено газо-хроматографічне розділення компонентів ефірних олій, виділених перегонкою з водяною парою з плодів фенхелю, коренів ангеліки, коренів солодки, трави деревію, квіток ромашки і трави тим'яну, а також із зразка шлункового збору (рис.).



Хроматограма ефірної олії шлункового збору (6,361 хв — пік внутрішнього стандарту)

На хроматограмі зразка шлункового збору було видно присутність помітних піків, які є головними на хроматограмах олії фенхелю (піки фенхону 7,174 хв та анетолу 12,770 хв), ангеліки (пік феландрену 2,413 хв) і тим'яну (піки тимолу 16,427 хв та карвакролу 16,751 хв). Внесок кореня солодки, трави деревію та квіток ромашки на хроматограмі шлункового збору був непомітний. Тому для їх ідентифікації у зборі було запропоновано використовувати кольорові реакції та ефект блакитного забарвлення виділеної ефірної олії азуленами деревію та ромашки, а ідентифікацію присутності у зборі плодів фенхелю (за піками фенхону та анетолу), коренів ангеліки (за піком феландрену) і тим'яну (за піками тимолу та/або карвакролу) проводити за допомогою ГРХ.

ГРХ-ідентифікацію проводили, порівнюючи часи утримання піків на хроматограмах зразка ефірної олії, виділеної із шлункового збору і кореня ангеліки та розчину стандартних речовин фенхону, анетолу, тимолу і карвакролу, одночасно з кількісним визначенням анетолу.

Кількісне визначення. Для кількісної оцінки внеску у шлунковий збір плодів фенхелю за допомогою ГРХ використовували вміст головного активного компонента його ефірної олії — анетолу. Оскільки вміст феландрену в корені ангеліки незначний, а трава тим'яну входить до складу збору також в незначній кількості, вміст феландрену, тимолу та карвакролу не визначали, а обмежилися лише їх ідентифікацією.

Приготування розчину внутрішнього стандарту. В мірну колбу місткістю 50 мл вміщували приблизно 0,1 г (точна наважа) гексанолу (внутрішнього стандарту) і 30 мл гексану. Розчин перемішували і доводили до мітки гексаном.

Приготування модельного розчину. В мірну колбу місткістю 50 мл вміщували 0,08 г анетолу, 0,02 г фенхону, по 0,05 г тимолу та карвакролу, 20,0 мл розчину внутрішнього стандарту, суміш перемішували і доводили до мітки гексаном.

Приготування розчину зразка. Приблизно 3,0 г збору (точна наважка) та приблизно 100 мл води вміщували в колбу зі шліфом на 500 мл, яку приєднували до апарата для визначення ефірних олій [3]. У приймач апарата наливали воду до максимального рівня і вміщували 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту. Виділення ефірної олії проводили протягом 150 хв. Після закінчення перегонки по 1 мкл розчину зразка та модельного розчину хроматографували в наведених вище умовах.

Критерії тесту на придатність хроматографічної системи. Виходячи з одержаних даних, було встановлено такі мінімальні вимоги тесту на придатність хроматографічної системи: кількість теоретичних тарілок, розрахована за піком анетолу, повинна бути не менше 30 000; коефіцієнт розділення між піками анетолу та інших речовин — не менше 1,5; коефіцієнт симетрії піків фенхону та анетолу — не більше 1,5. Відносне стандартне відхилення відношень площ піків речовин, що визначали, та внутрішнього стандарту на повторних хроматограмах модельного розчину та розчину зразка не повинно перевищувати 3,0 %.

Вміст анетолу та фенхону розраховували за співвідношенням площ їх піків та піків внутрішнього стандарту гексанолу на хроматограмах модельного розчину та розчину зразка. Середні значення вмісту фенхону та анетолу становили відповідно 0,048 та 0,77 % при відносному стандартному відхиленні 1,30 та 1,17 %.

Запропоноване мінімальне значення вмісту анетолу розраховували з даних про мінімально припустимий вміст ефірної олії згідно монографії Європейської фармакопеї [6] на плоди солодкого фенхелю (не менше 2,0 % на суху рослинну сировину, в якій не менше 80 % анетолу)

$$48,2 \cdot 0,02 \cdot 0,80/99,7 = 0,007735.$$

З урахуванням розрахованого значення (0,77 % анетолу), вологи у препараті та більш швидкого випаровування ефірної олії з подрібненої рослинної сировини запропоновано встановити вимоги стосовно вмісту анетолу у шлунковому зборі, який має бути не менше 0,7 %.

У зв'язку із протилежними вимогами щодо вмісту ефірної олії у плодах фенхелю (не менше 2,0 %) і фенхону в ефірній олії (не більше 7,5 %) встановити максимальне значення вмісту фенхону у плодах фенхелю було неможливо. Тому ми запропонували проводити лише ідентифікацію фенхону у шлунковому зборі.

Одержані за розробленою методикою результати визначення вмісту анетолу вкладалися у запропоновані нами межі вмісту цієї речовини у шлунковому зборі.

Валідація розробленого методу показала його добру лінійність (коефіцієнт лінійності становив 0,9998 для фенхону та 0,9997 для анетолу) та високу точність (відносне стандартне відхилення результатів визначення вмісту фенхону та анетолу не перевищувало 2,0 %).

Висновок

Обґрунтовано критерії та розроблено методику, яка дозволяє довести присутність фенхону, феландрену, анетолу, тимолу, карвакролу та оцінити кількісний вміст анетолу у шлунковому зборі за допомогою газорідної хроматографії ефірної олії, виділеної з цього збору.

1. Максютин Н.П., Комиссаренко Н.Ф., Прокопенко А.П. и др. Растительные лекарственные средства. — К., 1986. — 280 с.
2. Сур С.В. // Хим.-фармац. журн.— 1990. — № 2. — С. 42—50.
3. Сур С.В., Сур Л.І., Тулюпа Ф.М. // Фармац. журн.— 1988. — № 2. — С. 46—50.
4. Akgul A. // Progr. Essent. Oil. Res. Proc. Int. Symp. (Holzminden / Neuhaus, 1985). — Berlin — New York, 1986. — P. 487—489.
5. Chialva F., Doglia G., Garbi G. et al. // J. Chromatogr. — 1983. — Vol. 279. — P. 333—340.
6. European Pharmacopoeia. — 4th ed. — 2002 (on CD ROM).
7. Haggag M.Y., Shalaby A.S., Verzar-Petry G. // Planta Med. — 1975. — Vol. 27, № 4. — P. 361—366.
8. A. Krupinska //Sci. Pharm. — 1991. — Vol. 59. — P. 135—140.
9. Lurbes O., Rogue R., Proenca A. // Bol. Fac. farm. Coimbra. — 1989. — Vol. 13, № 1. — P. 45—52.

Надійшла до редакції 23.01.2002.

С.В. Сур, А.Г. Макаренко, Т.В. Герасимчук

ОБОСНОВАНИЕ КРИТЕРИЕВ ДЛЯ СТАНДАРТИЗАЦИИ И РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛАВНЫХ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ ЖЕЛУДОЧНОГО СБОРА С ПОМОЩЬЮ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Разработана методика идентификации феландрена, фенхона, анетолу, тимолу и карвакрола одновременно с количественным определением анетолу в желудочном сборе методом газожидкостной хроматографии. На основе полученных экспериментальных данных предложены критерии теста на пригодность хроматографической системы. Результаты анализа желудочного сбора находились в пределах спецификации и имели удовлетворительную сходимость.

S.V. Sur, O.G. Makarenko, T.V. Gerasimschuk

SUBSTANTIATION OF CRITERIA FOR STANDARTIZATION AND DEVELOPMENT OF A METHODS FOR IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE MAIN ACTIVE COMPONENTS IN THE GASTRIC TEA BY GAS LIQUID CHROMATOGRAPHY

SUMMARY

The technique for identification of fellandren, fenchone, anethole, thymol and carvacrol simultaneously with quantitative determination of anethole in the gastric tea by gas-liquid chromatography is developed. The criteria for system suitability test was proposed on the base of received experimental data. The results of analysis of gastric tea are within specification limit and have satisfactory repeatability.

