

Рекомендована д.ф.н., професором В.М.Ковальовим

УДК 615.324/21/015.4:616.379-008.64

## ЗАСТОСУВАННЯ ХРОМАТОГРАФІЇ В ТОНКИХ ШАРАХ СОРБЕНТУ ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ СУБСТАНЦІЇ ДІАКАМФУ ТА ЇЇ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ДОМІШОК

С.І.Мерзлікін, В.С.Бондар, В.В.Болотов

Національна фармацевтична академія України

Вивчені умови ідентифікації субстанції діакамфу та її технологічних домішок методом хроматографії в тонких шарах сорбенту. Підібрані системи розчинників, за допомогою яких вдається досягти найбільшого розділення досліджуваних сполук. Одержані результати запропоновані для використання з метою ідентифікації субстанції діакамфу в процесі виробництва та контролю її якості.

Діакамф — новий антидіабетичний фармакологічний засіб, розроблений в Національній фармацевтичній академії України [1-3, 6-10].

При розробці технології синтезу субстанції діакамфу нами було встановлено утворення побічних продуктів [5], будова яких встановлювалась за допомогою ЯМР-спектроскопії [4].

Метою нашої роботи є розробка умов ідентифікації субстанції діакамфу та її технологічних домішок із застосуванням методу хроматографії в тонких шарах сорбенту (ТШХ).

### Експериментальна частина

Ідентифікацію субстанції діакамфу — ( $\pm$ )-цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонова кислота та її домішок (табл. 1) проводили на скляних пластинках для високоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ) виробництва Естонії (силікагель — КСКГ, фракція — 5:20 мкм, товщина шару —  $130 \pm 25$  мкм, розмір пластинки — 20x20 см), на пластинках "Сорбфіл" (силікагель — СТХ-1А, фракція — 5:17 мкм, тип основи — ПЕТФ-Є, розмір пластинки — 10x10 см) та пластинках "Silufol UV-254" (розмір пластинки — 15x15 см). Як рухомі фази застосовували різні системи розчинників нейтрального та кислого характеру.

Хроматографування проводили в камері об'ємом 500 см<sup>3</sup>, в яку вносили по 50 мл систем розчинників. Камеру насичували протягом 30 хв. Пластинки активували нагріванням при 110°C протягом 30 хв. На лінію старту на відстані 2 см від краю пластинки наносили зразки діакамфу та його домішок (0,05% розчин в етанолі), які містили від 1 мкг до 100 мкг препарату. Довжина

шляху пробігу розчинників складала 8 см. Коли фронт розчинників доходив до відмітки, пластинку виймали із камери, висушували при температурі від 100 до 110°C та проявляли. Для детекту-

Таблиця 1

Вихідні продукти та технологічні домішки, що утворюються при синтезі діакамфу

Сполука	Хімічна будова
I Ангідрид камфорної кислоти	
II о-Фенілендіамін	
III 2'-Амінофеніл-амід камфорної кислоти	
IV цис-Діакамф	
V Лактам діакамфу	
VI транс-Діакамф	

Таблиця 2

Значення Rf діакаμφу та його технологічних домішок

Сполука*	Системи розчинників**												Забарвлення***
	1			2			3			4			
	Silufol	Сорбфіл	ВЕТШХ	Silufol	Сорбфіл	ВЕТШХ	Silufol	Сорбфіл	ВЕТШХ	Silufol	Сорбфіл	ВЕТШХ	
I	0,53	0,50	0,32	0,75	0,80	0,43	0,80	0,84	0,34	0,48	0,46	0,37	Жовте
II	0,43	0,45	0,61	0,33	0,38	0,64	0,40	0,47	0,58	0,52	0,50	0,61	Синє
III	0,54	0,52	0,51	0,47	0,56	0,60	0,10	0,12	0,18	0,40	0,42	0,52	Жовте
IV	0,50	0,48	0,54	0,38	0,50	0,56	0,05	0,09	0,22	0,36	0,37	0,58	Синьо-фіолетове
V	0,60	0,57	0,28	0,71	0,87	0,39	0,15	0,16	0,11	0,62	0,60	0,61	Синє
VI	0,42	0,44	0,59	0,48	0,45	0,63	0,13	0,12	0,24	0,24	0,26	0,36	Синьо-фіолетове

Примітка: \* — нумерація сполук відповідно до табл. 1;

\*\* — системи розчинників: 1) хлороформ-етанол-гексан (1:1:1); 2) хлороформ-етанол-гексан (1:1:2); 3) толуол-ацетон-хлороформ-ізо-пропанол-діетиламін (30:15:5:1:0,3); 4) хлороформ-етанол-гексан-оцтова кислота (10:10:20:0,2);

\*\*\* — проявник: бромкрезоловий зелений.

вання зон адсорбції речовин використовували пари йоду, розчин бромкрезолового зеленого та розчин фосфорно-молібденової кислоти.

#### Результати та їх обговорення

Результати проведених досліджень свідчать про те, що для кожного з використаних тонких шарів сорбентів існують системи розчинників, при використанні яких були одержані надійні значення величин Rf. Отримані дані наведені в табл. 2.

Встановлено, що при хроматографуванні проб у системі розчинників I на пластинках "Silufol" та "Сорбфіл" значення Rf діакаμφу та його домішок знаходяться в інтервалі від 0,4 до 0,6, що свідчить про їх незначний розподіл у таких умовах. На пластинках ВЕТШХ досягнуте дещо краще відділення вихідного ангідриду I та лактаму V від діакаμφу IV, однак їх власні значення Rf знаходяться в досить вузьких межах (0,28-0,35).

При хроматографуванні проб у системі розчинників 3 позитивні результати отримані на пластинках "Silufol". У вказаних умовах досягнуте оптимальне відділення діакаμφу IV від вихідних ангідриду I та о-фенілендіаміну II (значення Rf відповідно 0,05; 0,8 та 0,4). Однак, даний елюент недостатньо звільняє діакаμφ від побічних домішок: амідю III, лактаму V та транс-діакаμφу VI (значення Rf відповідно 0,05; 0,1; 0,15; 0,13).

Значно кращі показники були досягнуті в системі розчинників 4 на пластинках "Silufol" та "Сорбфіл".

Найбільш оптимальні результати були отримані при хроматографуванні сполук у системі розчинників 2. Однак на пластинках ВЕТШХ значення Rf домішок знаходяться в більш вузьких межах

(0,39-0,64), ніж на пластинках "Silufol" та "Сорбфіл" (відповідно 0,33-0,71 та 0,38-0,87).

Для детектування зон адсорбції досліджуваних сполук використовували декілька проявників: пари йоду, розчини бромкрезолового зеленого, фосфорно-молібденової кислоти, 2,4-динітрофенілгідразину та сірчаної кислоти. Встановлено, що діакаμφ та його домішки трьома останніми проявниками практично не проявляються. Пари йоду (проявник, рекомендований в проєкті ВФС) та бромкрезоловий зелений проявляють як основну сполуку, так і домішки з практично співвідносними показниками чутливості (1-2 мкг). Однак чутливість парів йоду для камфорного ангідриду складає 100 мкг. Перевагою бромкрезолового зеленого є більша специфічність. При його застосуванні плями на хроматограмі мають різне забарвлення (табл. 2), тому це вимагає чітких умов його приготування та застосування при проявленні хроматограм. Наприклад, після хроматографування в кислій системі, яка вміщує оцтову кислоту, перед проявленням пластинку необхідно висушувати на повітрі не менше однієї години.

#### ВИСНОВКИ

1. Розроблені умови ідентифікації субстанції діакаμφу та технологічних домішок із застосуванням методу тонкошарової хроматографії.

2. Підібрані системи розчинників, за допомогою яких вдається досягти найкращого розділення досліджуваних сполук; визначені значення Rf діакаμφу та кожної технологічної домішки.

3. Одержані результати можуть бути використані для ідентифікації діакаμφу і технологічних домішок у процесі виробництва препарату та контролю його якості.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Боднар П.М., Кононенко Л.О., Мерзлікін С.І. // *Ендокринологія*. — 1999. — Т. 4, №1. — С. 110-111.

2. Мерзликін С.И., Черных В.П., Бондарь В.С. и др. // *Фізіологічно активні речовини.* — 1999. — №2 (28). — С. 12-15.
3. Мерзликін С.И., Черных В.П., Болотов В.В. и др. // *Фізіологічно активні речовини.* — 2000. — №1 (29). — С. 32-34.
4. Мерзликін С.И., Черных В.П., Яременко Ф.Г. // *Фізіологічно активні речовини.* — 2000. — №2 (30). — С. 45-47.
5. Мерзликін С.И., Черных В.П., Яременко Ф.Г. // *Вісник фармації.* — 2001. — №1 (25). — С. 29-32.
6. Пашнев П.Д., Чуешов В.И., Мерзликін С.И. и др. // *Фармаком.* — 1995. — №11-12. — С. 42-44.
7. Полторак В.В., Гладких О.И., Мерзликін С.И. // *Вісник фармації.* — 1997. — №1 (15). — С. 81-84.
8. Poltorak V., Gladkikh A., Merzlikin S. // *Horm. and Metab. Res. Abstr.* — Athens, Greece, 1995. — Suppl. 1. — P. 182.
9. Poltorak V., Merzlikin S., Gladkikh A. // *J. of Physiol. and Pharmacol.* — 1994. — Vol. 72. — Suppl. 1. — P. 229.
10. Poltorak V., Merzlikin S., Gladkikh A. // *Abstr. XV-th Intern. Diab. Feder. Congr.* — Kobe, Japan, 1994. — P. 107.

УДК 615.324/21/015.4:616.379-008.64

ПРИМЕНЕНИЕ ХРОМАТОГРАФИИ В ТОНКИХ СЛОЯХ СОРБЕНТА ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ СУБСТАНЦИИ ДИАКАМФА И ЕЁ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРИМЕСЕЙ  
С.И.Мерзликін, В.С.Бондарь, В.В.Болотов

Изучены условия идентификации субстанции диакамфа и ее технологических примесей методом хроматографии в тонких слоях сорбента. Подобраны системы растворителей, позволяющие достичь наибольшего разделения исследованных веществ. Полученные результаты предложено использовать для идентификации субстанции диакамфа в процессе производства и контроля ее качества.

UDC 615.324/21/015.4:616.379-008.64

THE APPLICATION OF THIN LAYER CHROMATOGRAPHY FOR IDENTIFICATION OF DIACAMPH SUBSTANCE AND ITS TECHNOLOGICAL IMPURITIES  
S.I.Merzlikin, V.S.Bondar, V.V.Bolotov

The conditions of identification of Diacamph substance and its technological impurities by method of thin layer chromatography have been investigated. We have selected the systems of solvents with the help of which it is possible of obtain the largest division of investigated substances. It has been offered to use the received results for identification of Diacamph substance in production process and for quality control.

## Довідник "ВФ"

**Вышло из печати учебное пособие**

**Руденко В.П., Сербин А.Г., Городнянская Л.М. и др.**

**Под общ. ред. Сербина А.Г. и Руденко В.П.**

**Ботаника. Учебно-полевая практика:**

**Учебное пособие для студентов вузов**

**Х.: Изд-во НФАУ, 2001, 340 с.**

Пособие включает 4 раздела, в которых изложен материал по экологии растений и геоботанике, охране природы, правилам сбора, по методикам гербаризации и фиксации растительных объектов, проведению экскурсионно-лабораторных занятий.

Предназначено для иностранных и отечественных студентов фармацевтических вузов, фармацевтических факультетов медицинских вузов, а также преподавателей, руководителей баз практики и рекомендуется для самостоятельной подготовки к учебно-полевой практике по ботанике.

Пособие может быть использовано студентами и преподавателями вузов, в учебную программу которых входит проведение учебно-полевой практике по ботанике, а также учителями биологии.