

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ ДЕНСИТОМЕТРІЇ ПРИ ВИЗНАЧЕННІ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ АЗАРОНУ В КОРЕНЕВИЩАХ ЛЕПЕХИ ЗВИЧАЙНОЇ

¹Яременко М.С., ¹Гонтова Т.М., ²Котова Е.Е.

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Кафедра ботаніки

²Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», м. Харків, Україна

caecys@gmail.com

Постійний розвиток технологій дає можливість застосовувати передові методики в фармацевтичному аналізі. Ще не так давно тонкошарова (ТШХ) та високоефективна рідинна хроматографія були передовими методами дослідження якісного складу та кількісного вмісту, а вже зараз вони активно застосовуються на всіх етапах фармацевтичної промисловості та науки. Зараз активно впроваджуються методи високоефективної тонкошарової та ультрависокоефективної рідинної хроматографії. За останні декілька років в монографіях Європейської фармакопеї на лікарську рослинну сировину йде заміна ТШХ на високоефективну тонкошарову хроматографію (ВЕТШХ). Хроматографічні пластини для ВЕТШХ, в порівнянні з пластинами для ТШХ, мають менший розмір часток сорбенту, 2-10 мкм проти 5-40 мкм. Це дає можливість збільшити роздільну здатність, добитися більшої точності та відтворюваності, а також зменшити похибку методу. На відміну від ТШХ, що застосовується для ідентифікації речовин та граничного контролю домішок, ВЕТШХ можливо застосовувати для кількісного визначення сполук [2].

Кореневища лепехи використовуються при різних патологічних станах шлунково-кишкового тракту, входять до складу багатьох лікарських зборів. Головною групою БАР кореневищ лепехи є ефірні олії. За даними літератури та власними дослідженнями для вітчизняних зразків сировини кількісний вміст ефірної олії знаходиться в межах 2-3%. Більшість компонентів ефірної олії представлені моно- та сесквітерпеноїдами, ароматичними сполуками. Одним з домінуючих індивідуальних компонентів є азарон [1]. У 2005 році Європейським медичним агентством, з огляду на токсичність даної речовини – тератогенного та мутагенного впливу, рекомендовано обмежити використання лікарських засобів, що містять в своєму складі азарон, на рівні 115 мкг/день [4]. Відповідно до ДФУ вміст азарону в кореневищах лепехи звичайної не має перевищувати 0,5% [3]. Враховуючи все це, розробка методик визначення точної кількості азарону в ЛРС є актуальним питанням.

Метою даної роботи була розробка та оцінка перспективності методики кількісного визначення азарону в кореневищах лепехи звичайної методом денситометрії з використанням ВЕТШХ-пластинок.

Кількісне визначення проводили методом денситометрії використовуючи обладнання фірми Camag. Для хроматографування було обрано хроматографічні пластинки HPTLC plates silica gel 60 F254 (Merck), 10x10 см. Досліджуваний розчин з кореневищ лепехи звичайної готували використовуючи попередньо подрібнену і просіяну через сито 355 сировину наступним чином: 1,0 г сировини відважували в кругло донну колбу, заливали метанолом і витримували на водяній бані зі зворотнім холодильником за температури 60°C протягом 10 хв. В якості стандарту використовували стандартний зразок азарону фірми Sigma-Aldrich.

На хроматографічну пластинку за допомогою аплікатору напівавтоматичного Linomat 5 (Camag) наносили: по 10 мкл 0,25%, 0,5% і 0,75% розчинів стандартного зразку та по 10 мкл досліджуваних розчинів. Швидкість нанесення 150 нл/сек.

Хроматографування проводили в системі *толуол Р – етилацетат Р* (93-7 об./об.). Хроматографічну дериватизацію проводили методом занурення у розчин анісового альдегіду

з використанням Immersion Device (Camag) (на рис. 1 наведено типову хроматограму отриману за зазначених умов).

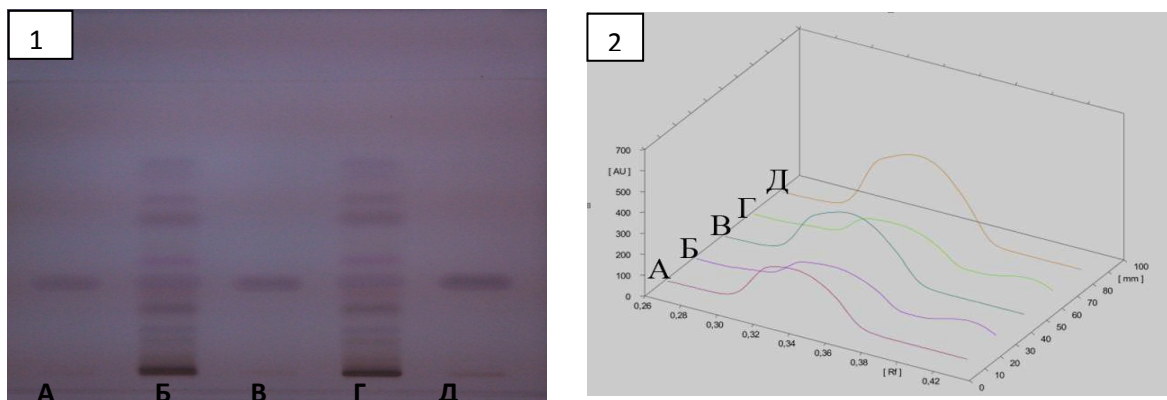


Рис. 1. Хроматограма, отримана при кількісному визначенні азарону в кореневищах лепехи звичайної

Рис. 2. УФ спектри поглинання при денситометричному аналізі отриманої хроматограми: А – 0,25% розчину стандарту; Б, Г – досліджувані розчини; В – 0,5% розчин стандарту; Д – 0,75% розчин стандарту

Як видно з отриманої хроматограми (рис. 1) та УФ-спектрів поглинання при денситометричному аналізі (рис. 2), значення Rf та максимумами спектрів поглинання для всіх зразків однакове, що дає можливість вважати цю методику успішною і рекомендувати її в якості методики кількісного визначення азарону у сировині кореневищ лепехи звичайної. Розрахований кількісний вміст азарону в досліджуваних зразках сировини був на рівні 0,22 %. Отримані результати відповідають вимогам, що регламентує монографія Державної фармакопеї України «Лепехи кореневище».

Розроблена ВЕТШХ методика може бути використана для кількісного визначення вмісту азарону в сировині лепехи звичайної після проведення необхідних валідаційних досліджень, та буде запропонована для використання в монографію ДФУ «Лепехи кореневища».

Література

1. Гонтова Т.М. Хромато-мас-спектрометричне вивчення летких сполук кореневищ лепехи звичайної / Т.М. Гонтова, М.С. Яременко // Збірник наук. праць співробітників НМАПО ім. Шупика. Київ – 2015 – Вип.24, книга 5. – С. 77-82.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – с. 59.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – с. 178.
4. Public Statement on the use of herbal medicinal products containing asarone / The Committee on Herbal Medicinal Products / London, 23 November 2005. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/04/WC500089956.pdf.
5. Goggelmann W. Mutagenicity testing of b-asarone and commercial calamus drugs with Salmonella typhimurium / W. Goggelmann, O. Schimmer // Mutat. Res. – 1983. – Vol. 121, № 3-4. – P. 191–194.