

Рекомендована д.х.н., професором І.С.Гриценком

УДК 615.23:615.07:543.545:543.875.6:543.544.4

ІДЕНТИФІКАЦІЯ БРОМГЕКСИНУ ЗА ДОПОМОГОЮ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ, КОЛЬОРОВИХ РЕАКЦІЙ ТА ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ НА ПАПЕРІ

С.М.Полуян, В.В.Болотов, В.С.Бондар, С.А.Карпушина

Національна фармацевтична академія України

Вивчені умови виявлення бромгексину за допомогою хроматографії в тонких шарах сорбенту, кольорових реакцій з різними реагентами та встановлена їх чутливість. Доведено, що знайдені умови можуть бути використані для виявлення бромгексину в присутності ряду лікарських препаратів, які можуть застосовуватись разом з ним. Проведені дослідження електрофоретичної поведінки бромгексину.

Бромгексин (бісальвон)-N-(2-аміно-3,5-дибромбензил)-N-метилциклогексиламіну гідрохлорид — препарат муколітичної дії, який використовується в медицині при лікуванні гострих та хронічних бронхітів різної етіології, туберкульозу легенів, гострої та хронічної пневмонії [5, 6].

Препарат належить до списку Б і становить інтерес в хіміко-токсикологічному відношенні [2]. Однак методи виявлення бромгексину, виділеного з біологічного матеріалу, розроблені недостатньо.

Метою нашої роботи є розробка умов виявлення бромгексину в присутності інших лікарських препаратів, які можуть застосовуватись разом з ним, за допомогою методів, які широко використовуються в хіміко-токсикологічному аналізі для виявлення отруйних речовин: хроматографії в тонких шарах сорбенту (ТШХ) [3,7,8], кольорових реакцій [4,9], електрофорезу на папері [1, 10].

Експериментальна частина

Для ідентифікації бромгексину за допомогою ТШХ використовували скляні пластинки для високоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ) виробництва Естонії (силікагель КСКГ, фракція 5:20 мкм, товщина шару 130 ± 25 мкм, розмір пластинки 20x20 см), пластинки Сорбфіл (силікагель СТХ-ІА, фракція 5:17 мкм, тип основи ПЕТФ-Є), скляні пластинки фірми "Merck" (Німеччина) (силікагель GF-254, розмір пластинки 10x10 см). Хроматографували в камері об'ємом 2000 см³, в яку

Таблиця 1

Значення R_f бромгексину та деяких інших препаратів муколітичної та протикашльової дії в різних тонких шарах сорбентів та системах розчинників

Препарат	Значення Rf в системах (на пластинках)						
	1 (Сорбфіл)	2 (Merck)	2 (ВЕТШХ)	3 (Сорбфіл)	4 (Сорбфіл)	5 (ВЕТШХ)	6 (Сорбфіл)
Бромгексин	0,81	0,71	0,50	0,83	0,67	0,76	0,77
Амброксол	0,74	0,68	0,53	0,44	0,08	0,34	0,70
Тусупрекс	0,41	0,54	0,24*	0,29*	0,55	0,59	0,42
Глауцин	0,56	0,47	0,17*	0,35	0,20	0,39	0,55
Кодеїн	0,33	0,35*	0,15*	0,12*	0,07	0,12	0,34
Лібексин	0,71	0,55	0,41*	0,62	0,50	0,62	0,71
Димедрол	0,49	0,57	0,44*	0,35*	0,48	0,53	0,47*
Дипразин	0,51	0,58	0,32*	0,36	0,37	0,44	0,47*

Примітка: 1 — метанол-аміак (100:1,5); 2 — бутанол-1-оцтова кислота-вода (66:17:17); 3 — толуол-ізопропіловий спирт-аміак (80:19:2); 4 — гексан-толуол-діетиламін (75:15:10); 5 — етилацетат-толуол-діетиламін (30:20:1,5); 6 — етилацетат-толуол-діетиламін (30:20:1,5); 6 — етилацетат-метанол-діетиламін (30:20:1,5).

Для препаратів, зазначених знаком *, спостерігали утворення хвостів.

Таблиця 2

Забарвлення плям бромгексину і чутливість реакцій його виявлення на хроматографічних пластинках

Проявники	Забарвлення плям	Межа відкриття у плямі, мкг
Опромінення УФ-світлом	Жовте	1
Пари йоду	Жовте	0,5
Реактив Браттона-Маршалла	Рожеве	0,1
Реактив Драгендорфа	Буре	0,05*
Реактив Драгендорфа (за Мунье)	Оранжеве	0,1
0,1% розчин бромфенолового синього	Блідо-голубе	20

*Реактив Драгендорфа проявляє також плями інших препаратів, зазначених в табл. 1 (бурі плями).

вносили по 100 мл розчинників. Камеру насичували протягом 30 хв.

На лінію старту на відстані 2 см від краю пластинки послідовно наносили краплями 0,05% розчини препаратів у 96% етанолі, які вміщували від 0,1 до 10 мкг речовин. Шлях пробігу розчинників для пластинок ВЕТШХ складав 10 см, а для пластинок Сорбфіл — 7 см. Склад використаних нами

систем розчинників нейтрального, кислотного та лужного характеру наведений в табл. 1. При застосуванні систем розчинників нейтрального характеру пластинки перед нанесенням досліджуваних розчинів спочатку обприскували 0,1 М розчином калію гідроксиду в метанолі та активували нагріванням при 110°C протягом 30 хв. При застосуванні систем розчинників основного та кислотного характеру пластинки попередньо не обробляли.

Результати та їх обговорення

Результати проведених досліджень свідчать про те, що для кожного з використаних тонких шарів сорбентів існують системи розчинників, при використанні яких одержують надійні значення величин R_f (0,2-0,8). Найефективніше здійснюється відокремлення бромгексину від інших препаратів аналогічної дії в системах 2 (пластинки Merck, ВЕТШХ) та 1,4 (пластинки Сорбфіл), а розділення досліджуваних препаратів — в системах 3,4,6 (пластинки Сорбфіл) та 5 (пластинки ВЕТШХ).

Як проявники використовували реактиви, представлені в табл. 2. Наведені в табл. 2. дані свідчать про те, що найбільш чутливим реактивом для проявлення плям бромгексину є реактив Драгендорфа.

Нами також був досліджений ряд кольорових реакцій бромгексину та деяких інших препаратів

Таблиця 3

Кольорові реакції бромгексину та інших препаратів муколітичної та протикашльової дії

Препарат	Забарвлення з реактивом							
	Ердмана	Фреде	Манделіна	Маркі	Лібермана	H ₂ SO ₄ конц.	HNO ₃ конц.	HCl конц.
Бромгексин	Фіолетове (10)*	-	З боку оранжеве (10)*	-	Фіолетове (20)*	Жовте (200)*	-	-
Амброксол	Фіолетове → коричневе	Рожеве	Рожеве	-	-	Рожеве	-	-
Тусупрекс	-	-	-	Оранжеве	Жовте (зникаюче)	-	-	-
Глауцин	Голубе → коричневе	Синє → синьо-зелене	Голубе → зелене	Синьо-зелене	Зелене → коричневе	Голубе	Блідо-коричневе	-
Димедрол	Жовте → лимонне → рожеве → лілове	Лимонно-жовте → оранжеве	-	Лимонно-жовте → буре	Жовте → вишневе → бордове	Жовте	-	-
Кодеїн	-	Зелене → синє	Зелене → синє	Зелене з синюватим відтінком	Зелене → оранжеве	-	-	-
Дипразин	Вишневе → зелене	Малинове	Малинове	Рожеве	Вишневе	Рожеве	Рожеве (зникаюче)	-
Терпінгідрат	Лимонне → жовте	Оранжеве → рожеве → брудно-зелене	Оливкове	Оранжеве → буре	-	Жовто-рожеве	-	-

Примітка. Знак → означає перехід забарвлення.

*Мінімум, що відкривається, мкг.

муколітичної та протикашльової дії і препаратів, які можуть застосовуватись разом з бромгексином з різними реактивами. Реакції виконували на білих керамічних пластинках за наступною методикою: у комірку вносили хлороформні (спиртові) розчини бромгексину та інших речовин, що вміщували від 1 мкг до 200 мкг препарату в пробі. Після випаровування розчинників в комірку додавали 1 краплю розчинів реактивів. Паралельно проводили контрольний дослід (замість розчину препарату використовували хлороформ (етанол)). Спостереження проводили одразу та через 10-20 хв. У результаті проведеного дослідження було виявлено, що з усіх вивчених реактивів найбільш чутливим для визначення бромгексину є реактив Манделіна та Ердмана, а найбільш селективними реактивами для визначення вивчаємої групи препаратів є реактив Лібермана та Манделіна, які дозволяють відрізнити бромгексин від інших препаратів (табл. 3).

Крім хімічних та хроматографічних методів ідентифікації бромгексину нами було проведене дослідження його електрофоретичної поведінки. Для електрофорезу на папері використовували прилад ПЕФ-3. З хроматографічного паперу FN-5 вирізали смуги розміром 200x80 мм. На лінії старту, що

знаходилась на відстані 20 мм від анодного кінця, наносили різні об'єми 0,05% спиртового розчину бромгексину з вмістом від 1 мкг до 20 мкг препарату в точку.

Смугу паперу з нанесеними пробами поміщали в електроліт, залишаючи незрошеною ділянку на відстані 10 мм від лінії старту. Надлишок електроліту видаляли за допомогою фільтрувального паперу. Незрошену ділянку обприскували з пульверизатора електролітом (10% розчин оцтової кислоти в суміші з водою (1:7)). Електрофорез проводили протягом 60 хв. при напрузі 400 В. Фореграми висушували на повітрі і плями бромгексину проявляли реактивом Драгендорфа в модифікації за Мунье (оранжеві плями, межа виявлення — 5 мкг у пробі). Довжина шляху форефу (ДШФ) бромгексину складала $64 \pm 0,5$ мм.

ВИСНОВКИ

1. Вивчені умови виявлення бромгексину за допомогою хроматографії в тонкому шарі сорбенту, кольорових реакцій та електрофорефу на папері.

2. Доведено, що знайдені умови можуть бути використані для виявлення бромгексину в присутності ряду лікарських препаратів, які можуть застосовуватись разом з ним.

ЛІТЕРАТУРА

1. Болотов В.В., Джуманазаров А.А., Карпушина С.А., Онов А.О. // *Вісник фармації*. — 1994. — № 3. — С. 69-71.
2. Индияминов С.А., Коробкова Г.А., Бирюкова С.Р. // *Судеб.-мед. экспертиза*. — 1994. — № 4. — С. 20-26.
3. Карташов В.А., Овсянникова В.М., Кудрикова Д.Е. // *Судеб.-мед. экспертиза*. — 1982. — № 3. — С. 39-41.
4. Крамаренко В.Ф. *Токсикологическая химия*. — К.: Вища школа, 1995. — 423 с.
5. Лоуренс Д.Р., Бенитт П.Н. *Клиническая фармакология*. — М.: Медицина, 1993. — Т. 2. — 548 с.
6. Машковский М.Д. *Лекарственные средства. Пособие по фармакотерапии для врачей в 2-х частях*. — Х.: Торсинг, 1997. — Т. 1. — 590 с.
7. *Современные методы химико-токсикологического анализа: Сб. научн. тр.* — М., 1986. — С. 89-106.
8. Шаршунова А., Шварц Э., Михалец Ч. *Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии*. — М.: Мир, 1980. — Т. 1. — 295 с.
9. Clarke's isolation and identification of drugs. — London: The pharmaceutical press, 1986. — 1223 p.
10. Toxicology. Mechanisms and Analytical Methods. / Edited by C.P. Stewart and A. Stolman. — New York, London: Academic Press, 1960. — Vol. 1. — 659 p.

УДК 615.23:615.07:543.545:543.875.6:543.544.4

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БРОМГЕКСИНА С ПОМОЩЬЮ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ, ЦВЕТНЫХ РЕАКЦИЙ И ЭЛЕКТРОФОРЕЗА НА БУМАГЕ

С.М.Полуян, В.В.Болотов, В.С.Бондарь, С.А.Карпушина
Изучены условия обнаружения бромгексина с помощью хроматографии в тонких слоях сорбента, цветных реакций с различными реактивами и установлена их чувствительность. Показано, что найденные условия позволяют обнаружить бромгексин в присутствии ряда лекарственных препаратов, которые могут применяться совместно с ним. Проведено исследование электрофоретического поведения бромгексина.

UDC 615.23:615.07:543.545:543.875.6:543.544.4

DETERMINATION OF BROMHEXINE BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHY, COLOURED REACTIONS AND ELECTROPHORESIS ON THE PAPER

S.M.Poluyan, V.V.Bolotov, V.S.Bondar, S.A.Karpushina

The conditions of determination of bromhexine with the help of chromatography in thin layers of sorbent, of coloured reactions with various reactivities have been investigated and their sensitivity has been determined. It has been shown, that the conditions found allow to find out bromhexine at the presence of a number of medicinal preparations, which can be applied together with it. The research of electrophoretic behaviour of bromhexine has been carried out.