

ТСХ-АНАЛИЗ КАК СПОСОБ ОЦЕНКИ ПОДЛИННОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ СБОРОВ

О.В. Евдокимова

ГОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (г. Москва)

TLC as a method for herbal mixtures identification

O.V. Evdokimova

I.M. Sechenov First MSU (Moscow)

РЕЗЮМЕ

Современные требования, предъявляемые к нормативной документации на лекарственные растительного препараты, предполагают обязательное включение в национальные стандарты качества раздела «Качественные реакции». В действующей документации на некоторые лекарственные растительные сборы раздел «Качественные реакции» отсутствует. В данной статье показана возможность идентификации до 100 % компонентов лекарственных растительных сборов при использовании ТСХ-анализа.

Ключевые слова: лекарственные растительные сборы, ТСХ-анализ.

RESUME

According the modern requirements for the standard documentation for the herbal medicinal products, the national quality standards must contain issue Identification. There is no entry «Qualitative analysis» in the actual documentation on some herbal mixtures. It was shown the possibility to identify up to 100 % of components in the herbal mixtures by TLC.

Keywords: herbal mixtures, TLC.

ВВЕДЕНИЕ

Многокомпонентные лекарственные растительные препараты давно используются в медицинской практике, что обусловлено их эффективностью, мягкостью действия, отсутствием в большинстве случаев нежелательных побочных явлений при длительном использовании, доступностью.

Современные требования, предъявляемые к нормативной документации на лекарственные растительного препараты, предполагают обязательное включение в национальные стандарты качества раздела «Качественные реакции». И в данном разделе должны быть использованы современные методы анализа, например, хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ). В действующей документации на некоторые лекарственные растительные сборы раздел «Качественные реакции» вообще отсутствует.

Целью нашей работы являлось рассмотрение возможности обнаружения компонентов некоторых лекарственных растительных сборов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом изучения являлись модельные смеси и промышленные серии Противогеморроидального сбора и Грудного сбора №4; установление наличия тех или иных компонентов сборов проводили путем определения хроматографического профиля биологически активных соединений методом ТСХ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При разработке методик определения подлинности сборов методом ТСХ с целью подбора оптимальных условий для экстракции веществ из лекарственных растительных препаратов были проанализированы следующие экстрагенты: этанол 96 % – толуол – вода (50:100:1); этанол 96 % – толуол (1:1); этанол 96 % – толуол (4:1); этанол 96 %.

Также для подбора оптимальных условий разделения биологически активных веществ в тонком слое сорбента были проанализированы подвижные фазы, используемые при анализе сырья, содержащего фенольные соединения:

гексан – ацетон – толуол (60:20:10); толуол – этилацетат (95:5); этилацетат – кислота муравьиная безводная – вода (65:15:20); этилацетат – кислота уксусная ледяная – вода (5:1:1); этилацетат – толуол – кислота муравьиная безводная – вода – кислота уксусная ледяная (30:10:6:3:1); этилацетат – толуол – кислота муравьиная безводная – вода (60:20:10:4); этилацетат – толуол – кислота уксусная ледяная – вода (60:20:10:4); этилацетат – толуол – кислота уксусная ледяная – кислота муравьиная безводная – вода (60:20:5:5:4); этилацетат – этанол – вода – муравьиная кислота безводная (77:13:10:2); этилацетат – этанол – вода – толуол (50:8:2:5); этилацетат – этанол – вода (77:13:10) [1–3].

Проведенные исследования позволили установить, что оптимальным экстрагентом для извлечения веществ из Противогеморроидального сбора является этанол 96 % и наилучшее разделение фенольных соединений достигается в системе этилацетат – этанол 96 % – вода – муравьиная кислота безводная (77:13:10:2) на хроматографических пластинках «TLC Silica gel 60 F254» Aluminium sheets (фирма MERCK, Германия). В качестве растворов сравнения были использованы растворы стандартных образцов барбалоина и кверцетина в этаноле, зоны, которых выполняли роль метчиков на хроматограмме. В качестве детектирующего реагента использовали 1 % раствор дифенилборилоксиэтиламина в этаноле 96 % и 5 % раствор полиэтиленгликоля в этаноле 96 %.

После обработки последовательно растворами дифенилборилоксиэтиламина и полиэтиленгликоля в УФ-свете при 365 нм на хроматограмме испытуемого раствора обнаруживаются две зоны оранжевого цвета с R_s (по барбалоину) около 0,3 (*листья сенны*) и 1,1 (*трава тысячелистника*); зона зеленого цвета с R_s около 0,4 (*листья сенны*); зона коричнево-красного цвета с R_s около 0,5 (*кора крушины*); зона голубого цвета с R_s около 1,75 (*трава тысячелистника*); зона желто-зеленого цвета с R_s около 1,8 (*трава тысячелистника*); зона синего или сине-голубого цвета с R_s около 2,1 (*корни солодки*).

Фотография хроматограммы фенольных соединений модельной смеси сбора и отдельных компонентов сбора представлена на рис. 1.

В состав сбора Противогеморроидального входят 5 компонентов (Сенны листья, Тысячелистника трава, Солодки корни, Крушины

кора и Кориандра плоды), а разработанная методика позволяет идентифицировать наличие только **четырёх компонентов** (Сенны листья, Тысячелистника трава, Крушины кора, Солодки корни). Разработанная методика не позволяет идентифицировать наличие пятого компонента – Кориандра плоды, т.к. в плодах кориандра практически отсутствуют фенольные соединения.

Нами была предпринята попытка провести определение подлинности Кориандра плодов в сборе Противогеморроидальном методом ТСХ по липофильным веществам. Исследования, проведенные по определению липофильных веществ в данном сборе, не увенчались успехом: ни подбор экстрагента, ни подбор хроматографической системы не позволили установить подлинность плоды кориандра методом ТСХ в присутствии листьев сенны, травы тысячелистника, коры крушины и корней солодки в сборе Противогеморроидальном.

Проведенные исследования изволили установить, что оптимальной смесью для экстракции веществ из сбора Грудного №4 является смесь этанол 96 % – толуол – вода (50:100:1) и наилучшее разделение фенольных соединений достигается в системе этилацетат – толуол – кислота муравьиная безводная – вода – кислота уксусная ледяная (30:10:6:3:1) на хроматографических пластинках на хроматографических пластинках «TLC Silica gel 60 F254» Aluminium sheets (фирма MERCK, Германия), позволяющие определить **все компоненты сбора Грудного №4**. В качестве растворов сравнения использованы 0,5 % раствор рутина в этаноле 96 % и 0,5 % раствор кверцетина в этаноле 96 %, зоны, которых выполняли роль метчика на хроматограмме. В качестве детектирующего реагента нами предложено использовать 1 % раствор дифенилборилоксиэтиламина в этаноле 96 % и 5 % раствор полиэтиленгликоля в этаноле 96 %.

При просмотре хроматограммы испытуемого раствора в УФ-свете при 365 нм обнаруживалась зона фиолетового цвета с R_s (по кверцетину) около 1,0 (*цветки ромашки*).

После обработки раствором дифенилборилоксиэтиламина в УФ-свете при 365 нм на хроматограмме испытуемого раствора обнаруживались зоны зеленого цвета с R_s (по кверцетину) около 0,05 (*цветки календулы*) и 0,1 (*трава фиалки*); зоны оранжевого цвета с R_s около 0,3, и 0,6 (*побеги багульника*); зоны голубого цвета с R_s около 0,85 (*листья мяты*

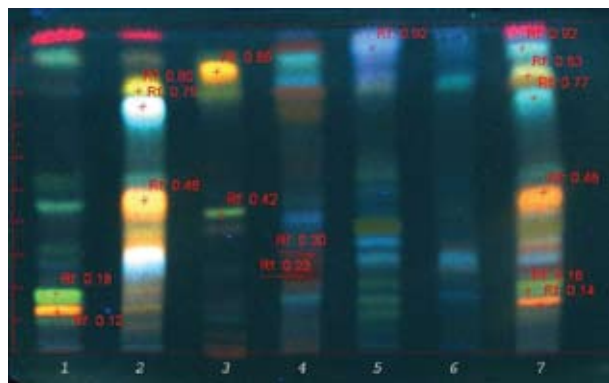


Рис. 1. Фотография хроматограммы фенольных соединений модельной смеси сбора и компонентов сбора Противогеморроидального в УФ-свете при длине волны 365 нм после обработки растворами дифенилборилоксиэтиламина и полиэтиленгликоля

1. Листья сенны;
2. Трава тысячелистника;
3. Барбалоин и кверцетин;
4. Кора крушины;
5. Корни солодки;
6. Плоды кориандра;
7. Модельная смесь сбора Противогеморроидального.

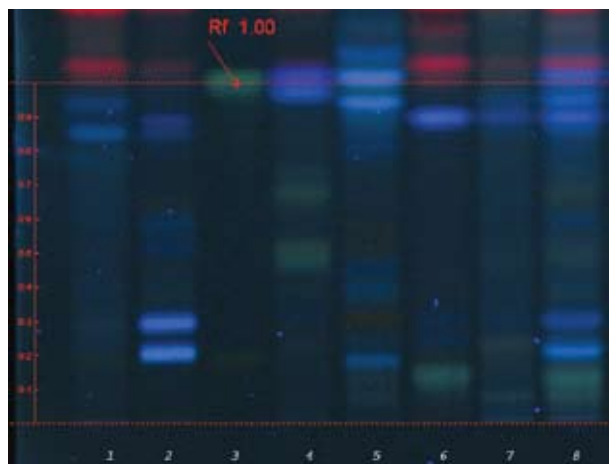


Рис. 2. Фотография хроматограммы фенольных соединений модельной смеси сбора и компонентов сбора Грудного №4 в УФ-свете при длине волны 365 нм

1. Листья мяты перечной;
2. Побеги багульника;
3. Рутин и кверцетин;
4. Цветки ромашки;
5. Корни солодки;
6. Трава фиалки;
7. Цветки календулы;
8. Модельная смесь сбора Грудного №4.

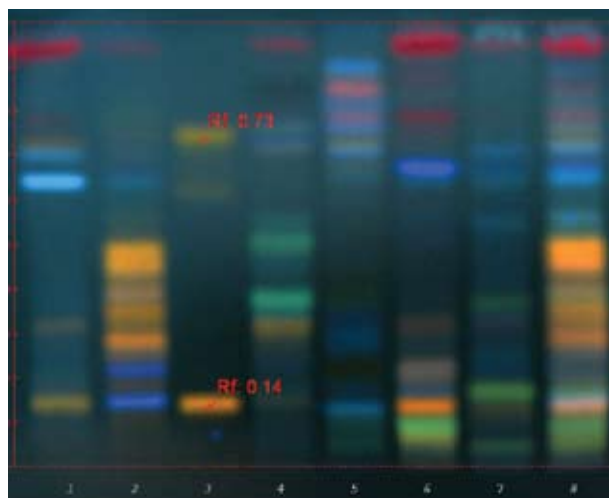


Рис. 3. Фотография хроматограммы фенольных соединений модельной смеси сбора и компонентов сбора Грудного №4 в УФ-свете при длине волны 365 нм после обработки растворами дифенилборилоксиэтиламина и полиэтиленгликоля

1. Листья мяты перечной;
2. Побеги багульника;
3. Рутин и кверцетин;
4. Цветки ромашки;
5. Корни солодки;
6. Трава фиалки;
7. Цветки календулы;
8. Модельная смесь сбора Грудного №4.

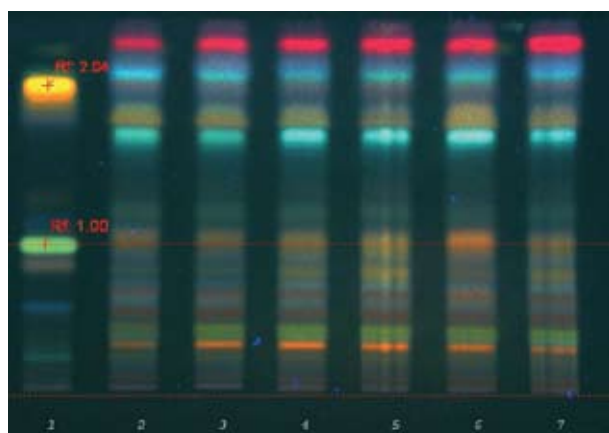


Рис. 4. Фотография хроматограммы фенольных соединений промышленных серий сбора Проктофитол® (сбора Противогеморроидального) в УФ-свете при длине волны 365 нм после обработки растворами дифенилборилоксиэтиламина и полиэтиленгликоля

1. Барбалоин и кверцетин;
2. Серия 50706;
3. Серия 20807;
4. Серия 51107;
5. Серия 20308;
6. Серия 70908;
7. Серия 10209.

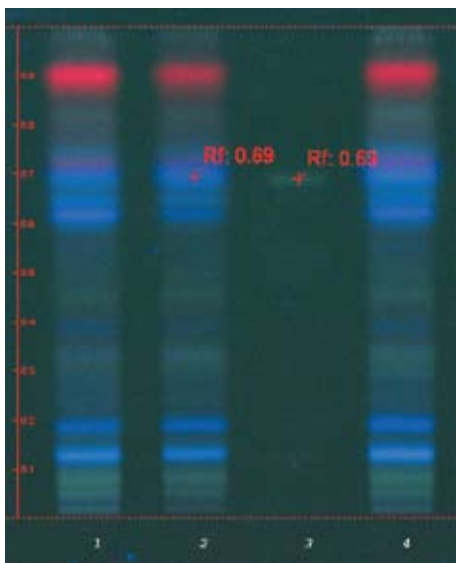


Рис. 5. Фотография хроматограммы фенольных соединений извлечений из промышленных серии сбора Грудного №4 в УФ-свете при 365 нм
1. Серия 251108;
2. Серия 271108;
3. Рутин и кверцетин;
4. Серия 121108.

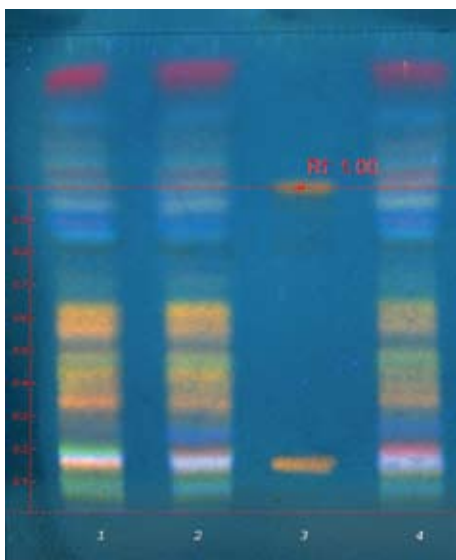


Рис. 6. Фотография хроматограммы фенольных соединений извлечений из промышленных серии сбора Грудного №4 в УФ-свете при 365 нм после обработки растворами дифенилборилоксиэтиламина и полиэтиленгликоля
1. Серия 251108;
2. Серия 271108;
3. Рутин и кверцетин;
4. Серия 121108.

перечной) и 1,2 (корни солодки); зона фиолетового цвета с R_f около 0,9 (трава фиалки).

Фотография хроматограммы фенольных соединений модельной смеси сбора и отдельных компонентов сбора представлена на рис. 2–3.

Валидация разработанных методик проводилась по специфичности и пригодности хроматографической системы. Специфичность методик оценивалась по совпадению хроматографических профилей различных серий сборов, по основным зонам между собой и их соответствие описанию методики. Количество испытуемых серий сборов было не менее трех. Были проанализированы промышленные серии сборов. Хроматографические профили различных серий совпали по основным зонам между собой и соответствуют описанию методик.

Фотографии хроматограмм промышленных серий сборов представлены на рис. 4–6.

В качестве показателя пригодности хроматографических систем выбрали разрешение между характерными зонами стандартных образцов. Значение разрешения между указанными зонами составило для Противогеморроидального сбора не менее 5,0, а для Грудного сбора №4 не менее 15,0.

ВЫВОДЫ:

1. Разработаны и валидированы методики определения подлинности двух сборов, позволяющие обнаружить до 100% компонентов сбора.

2. Полученные результаты включены в раздел «Качественные реакции» Проектов ФСП ОАО «Красногорсклексредства».

ЛИТЕРАТУРА

1. Фармакопея США: USP 29; Национальный формуляр: NF 24: в 2 т.: [пер. с англ.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – Т.2 – 1800 с.: ил.

2. Eke Reich, Anne Chili High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants/ Thyme Medical Publishers, Inc. NY 10001. – 2006. – 264 s.

3. Teedrogen und Phytopharmaka: ein Handbuch für die Praxis auf wissenschaftlicher Grundlage / hrsg. von Max Wichtl. Unter Mitarb. von Franz-Christian Czygan ... – 3., erw. und vollst. überarb. Aufl. – Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges., 1997. – 668 s.

Адрес автора

К.ф.н. Евдокимова О.В.

Доцент кафедры фармации ГОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
oeverdokimova@umail.ru