

лиза с результатами мониторинга 2006–2010 гг. Некоторое снижение параметров сегмента предположительно обусловлено причинами складывающейся сегодня конъюнктуры рынка и заботой государства о качестве ЛРП и лекарственного обеспечения населения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьева Т.Г., Дрёмова Н.Б., Киселёва Т.Л. Динамика основных показателей отечественного рынка официальных растительных препаратов в первом десятилетии XXI века // Традиционная медицина. – 2013. – № 3. – С.28–35.

2. Березин И.С. Маркетинговый анализ. Рынок. Фирма. Товар. Продвижение. – 3-е изд. – М.: Вершина, 2007. – 480 с.

3. Государственный реестр лекарственных средств (2013 г.) Интернет-ресурс: grls.rosminzdrav.ru

4. Киселева Т.Л., Смирнова Ю.А., Блинков И.Л., Дронова М.А., Цветаева Е.В. Краткая энциклопедия современной фитотерапии с основами гомеопатии: Справочник практического врача – М.: Изд-во Профессиональной ассоциации натуротерапевтов, 2010. – 565 с. – ISBN 978-5-91800-006-9.

Адрес автора

Д. фарм. н., проф. Киселёва Т.Л., директор Научно-исследовательского центра, президент НО «Профессиональная ассоциация натуротерапевтов», ведущий научный сотрудник НИИ питания РАМН.

KiselevaTL@yandex.ru

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ ТСХ-МЕТОДИК ОЦЕНКИ ПОДЛИННОСТИ СЫРЬЯ КАРДАМОНА

О.В. Евдокимова, И.А. Тарраб

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

Development and validation of TLC method for the identification of raw Cardamon

O.V. Evdokimova, I.A. Tarrab

Medical University First MGU them. I.M. Sechenov (Moscow, Russia)

РЕЗЮМЕ

Национальные стандарты качества лекарственных средств должны содержать раздел «Качественные реакции». В данной статье предложены методики определения подлинности сырья кардамона по липофильным и фенольным веществам методом хроматографии в тонком слое сорбента.

Ключевые слова: кардамон, определение подлинности, хроматография в тонком слое сорбента.

RESUME

National standards for the quality of medicines should contain a section «Identification». In this article, methods of identification of raw materials cardamom on the lipophilic and phenolic substances by thin layer chromatography of the sorbent are proposed.

Keywords: cardamom, identification, thin-layer chromatography method.

ВВЕДЕНИЕ

В зарубежных фармакопеях приведены монографии на лекарственное растительное сырье – Кардамона плоды [4, 5, 8, 10] и Кардамона семена [11]. В нашей стране сырье кардамона в настоящее время не является официальным [1], однако, широко исследуются масло, водно-спиртовые извлечения, получаемые из кардамона. Данный вид сырья может расширить номенклатуру отечественного лекарственного

растительного сырья [2, 3].

Целью настоящей работы явилась разработка и валидация методик определения подлинности методом ТСХ для включения в проект нормативной документации на сырье кардамона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования служили промышленные образцы плоды кардамона, от-

вечающие требованиям ГОСТ 29052-91 «Пряности. Кардамон. Технические условия». В медицинской практике применение находят семена кардамона [1, 4, 5, 8, 10, 11], которые извлекаются из плодов непосредственно перед использованием. Нами исследовались образцы, представляющие собой плоды, семена и коробочку плодов кардамона, для установления возможности идентификации семян кардамона. Это важно в случаях, если в порошке семян кардамона имеется примесь, например, коробочек, и этот факт невозможно установить по внешним признакам.

Хроматографию в тонком слое сорбента проводили на пластинках «TLC Silica gel 60 F254» Aluminium sheets (фирма MERCK, Германия). Экстракцию биологически активных веществ из сырья проводили спиртом этиловым 96 %.

При разработке методики были подобраны оптимальные условия разделения, в том числе проанализированы подвижные фазы, используемые при анализе сырья, содержащего липофильные и фенольные соединения [6, 7, 9, 11].

В качестве растворов сравнения: при анализе липофильных веществ использовали растворы стандартных образцов эвгенола и цинеола, при анализе фенольных соединений – растворы стандартных образцов рутина, гиперозида, кислоты кофейной и хлорогеновой. В качестве детектирующих реагентов нами применялись растворы анисового альдегида (для липофильных веществ) и дифенилборилоксиэтиламина в спирте этиловом 96 % (для фенольных соединений).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования позволили установить, что наилучшее разделение липофильных соединений сырья кардамона достигалось в системе метиленхлорид – толуол (1:1). Фенольные вещества лучше разделять в системе ацетон – этилацетат – толуол – вода – кислота муравьиная безводная (20:10:10:5:5).

После того, как фронт растворителя проходил расстояние 8 см от линии старта, пластинку вынимали из камеры, высушивали до удаления следов растворителей под тягой (при комнатной температуре).

При определении липофильных веществ: пластинку обрабатывали раствором анисового альдегида и сушили в вытяжном шкафу, а затем нагревали в сушильном шкафу при 105–110 °С в течение 2–3 мин. и сразу (немедленно) просматривали при дневном свете.

На хроматограмме раствора стандартных

образцов эвгенола и цинеола были обнаружены 2 зоны: зона коричневатого-фиолетового с R_f около 0,45 (эвгенол), принятая за $R_s = 1,0$, а также зона сине-фиолетового или фиолетового цвета с R_s (по эвгенолу) около 0,55 (цинеол).

На хроматограмме извлечения из плодов и семян кардамона обнаружены 9 зон коричневатого-фиолетового, сине-фиолетового или фиолетового цвета с R_s (по эвгенолу) около 0,25; 0,45; 0,6; 0,75; 1,0; 1,2; 1,7; 1,9 и 2,1. Возможно наличие коричневой полосы на линии старта и других зон.

На хроматограмме извлечения из коробочек кардамона обнаружены 9 зон: одна зона зеленого или желто-зеленого цвета с R_s (по эвгенолу) около 0,2 и 8 зон коричневатого-фиолетового, сине-фиолетового или фиолетового цвета с R_s около 0,25; 0,45; 0,6; 0,75; 1,0; 1,2; 1,7 и 1,9. Возможно наличие коричневой полосы на линии старта и других зон.

По наличию основных зон липофильных веществ отличить плоды и семена кардамона не представляется возможным. В случае если, например, в порошок коробочек кардамона выдается за порошок семян или плодов кардамона этот факт можно установить по наличию зоны зеленого или желто-зеленого цвета с R_s (по эвгенолу) около 0,2 и отсутствию зоны коричневатого-фиолетового, сине-фиолетового или фиолетового цвета с R_s около 2,1.

При определении фенольных веществ: пластинку обрабатывали 1 % раствором дифенилборилоксиэтиламина в спирте 96 %, сушили в вытяжном шкафу, а затем обрабатывали 5 % раствором ПЭГ в спирте 96 % и сразу сушили в сушильном шкафу при 100–105 °С в течение 3–5 мин., просматривали в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора стандартных образцов кислоты кофейной, гиперозида, кислоты хлорогеновой и рутина обнаружены 4 зоны: две зоны желтого, желто-коричневого или желто-зеленого цвета с R_f около 0,45 (гиперозид), принятая за $R_s = 1,0$, и с R_s (по гиперозиду) около 0,7 (рутин), две зоны голубого цвета с R_s около 0,85 (кислота хлорогеновая) и с R_s около 1,65 (кислота кофейная).

На хроматограмме извлечения из плодов и коробочек кардамона обнаружены 4 зоны: одна зона желтого, желто-коричневого или желто-зеленого цвета с R_s (по гиперозиду) около 0,7, две зоны голубого цвета с R_f около 0,85 и 1,65, одна зона желто-коричневого цвета с R_f около 1,75. Возможно наличие других зон.

На хроматограмме извлечения из семян кардамона обнаружена одна зона с R_f (по гиперозиду) около 1,65.

По наличию только одной зоны на хроматограмме семян кардамона возможно отличить семена от коробочек и плодов кардамона.

Валидация разработанных методик проводилась по специфичности и пригодности хроматографической системы. Специфичность методик оценивали по совпадению хроматографических профилей различных серий сырья, по основным зонам между собой и их соответствие описанию методики. Количество испытуемых серий сырья было не менее 3. Хроматографические профили различных серий совпали по основным зонам между собой и соответствовали описанию методик.

В качестве показателя пригодности хроматографической системы в случае идентификации липофильных соединений выбрали разрешение между зонами стандартных образцов эвгенола и цинеола с R_s около 1,0 и R_s около 0,55, соответственно.

Разрешение между указанными зонами рассчитывали по формуле: $R = 2(t_{R2} - t_{R1}) / (W_{b1} + W_{b2})$, где t_{R1} – расстояние от линии старта до середины зоны цинеола с R_s около 0,55 мм; t_{R2} – расстояние от линии старта до середины зоны эвгенола с R_s около 1,0 мм; W_{b1} , W_{b2} – расстояние между верхней и нижней границами каждой из указанных зон (ширина зон), мм.

Значение разрешения между указанными зонами составило не менее 1,5 (табл. 1).

Таблица 1

Пригодность хроматографической системы

№ п/п	Сотрудник, проводивший валидацию	Значение				
		t_{R1}	t_{R2}	W_{b1}	W_{b2}	R
1	Химик-аналитик 1	21	39	4	5	4
2	Химик-аналитик 2	20	37	4	6	3,4

В качестве показателя пригодности хроматографической системы в случае идентификации фенольных соединений выбрали разрешение между зонами стандартных образцов гиперозида и рутина с R_s около 1,0 и R_s около 0,7, соответственно.

Разрешение между указанными зонами рассчитывали по приведенной выше формуле, где t_{R1} – расстояние от линии старта до середины зоны рутина с R_s около 0,7 мм; t_{R2} – расстояние от линии старта до середины зоны гиперозида с R_s около 1,0 мм; W_{b1} , W_{b2} – расстояние между верхней и нижней границами каждой из указанных зон (ширина зон), мм.

Значение разрешения между указанными зонами составило не менее 1,5 (табл. 2).

Пригодность хроматографической системы

№ п/п	Сотрудник, проводивший валидацию	Значение				
		t_{R1}	t_{R2}	W_{b1}	W_{b2}	R
1.	Химик-аналитик 1	24	35	2	4	3,3
2.	Химик-аналитик 2	23	34	2	4	3,7

ВЫВОДЫ

1. Разработаны и валидированы методики определения липофильных и фенольных соединений в сырье кардамона методом ТСХ.

2. Проведенные исследования позволили установить хроматографические характеристики сырья кардамона и идентифицировать семена кардамона.

3. Полученные результаты могут быть включены в проект ФС на перспективный вид лекарственного растительного сырья.

ЛИТЕРАТУРА

1. Российская Фармакопея (изданная Медицинским Советом Министерства Внутренних дел). 6-е изд. – СПб: Издание К.Л. Риккера, –1910. – 592 с.
2. Смирнова Ю.А. Разработка научно-методических подходов к расширению номенклатуры отечественного официального лекарственного растительного сырья: автореферат дис. ... канд.фарм.наук. – М., 2009 – 24 с.
3. Ткаченко К.Г. Эфирномасличные растения и эфирные масла: достижения и перспективы, современные тенденции изучения и применения // Вестник Удмуртского университета. – 2011. – вып.1. – С.88–100.
4. British Pharmacopoeia 2009. British Pharmacopoeia Volume III. Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations. Cardamom Fruit.
5. Deutsche Arzneibuch 2008. Amtliche Ausgabe. – Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 2008. – 410 s.
6. Eke Reich, Anne Chili High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants // Thyme Medical Publishers, Inc. NY10001. – 2006. – 264 s.
7. European Pharmacopoeia, 6th edition, 2008.
8. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Vol. I (English ed.). Beijing, Chemical Industry Press, 1997.
9. 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.
10. The Japanese pharmacopoeia: Official from march 31, 2006; English version. –15th ed. – Tokyo: The Ministry of Health, Labour and Welfare, 2006. – 1788 p.
11. United States Pharmacopoeia 30 – National Formulary 25. The Official Compendia of Standards. – Official May 1, 2007. – CD-ROM version.

Адрес автора

К.фарм.н Евдокимова О.В., доцент кафедры фармации
oeverdokimova@umail.ru