УДК 615. 322’615.11:582

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В СИРОПЕ ПИЖМЫ

Степанова Э.Ф., Якусевич Р.В., Дайронас Ж.В.

ГОУ ВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия», Пятигорск, e-mail: elf@megalog.ru

Установлено содержание суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, БАВ, обеспечивающих желчегонное действие, в образце разработанного сиропа с экстрактом пижмы, которое составило 0,16%. На основе нормативной документации на сырье «цветки пижмы» и препарат «Танацехол» предложена методика количественного определения флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчете на лютеолин методом прямой спектрофотометрии. Проведена валидация разработанной методики по параметрам линейности (область линейной зависимости находится при концентрациях лютеолина от 3,81 до 12,26 мкг/мл), повторяемости (относительное стандартное отклонение равно 2,37%) и правильности (средний процент открываемости составил 100,92%). Полученные результаты показали, что методика позволяет объективно оценивать качество сиропа с экстрактом пижмы.

Ключевые слова: флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, лютеолин, пижма, сироп

SUBSTANTIATION OF POSSIBILITY OF USE AZITHROMYCIN AS THE OPERATING COMPONENT IN OPHTHALMOLOGIC MEDICINAL FORMS

Stepanova E.F., Yakusevich R.V., Daironas J.V.

Pyatigorsk state pharmaceutical academy, Pyatigorsk, e-mail: elf@megalog.ru

The content of flavonoid and phenol carbonic acids, biologically active substances, providing a choleretic effect, in a sample of developed syrup with the tansy extract was established. The determined concentration of flavonoid and phenol carbonic acids was 0.16%. Quantitative determination of flavonoids and phenol carbonic acids was performed using direct spectrophotometry with luteolin as standard on the basis of the technique in standard documentation for medicinal plant raw materials «tansy flower» and the drug «Tanatsehol». The validation of the developed technique was carried out to the parameters of linearity (the region of linear dependence of luteolin was obseved at concentrations of 3,81 to 12,26 mg/ml), repeatability (relative standard deviation was 2,37%) and accuracy (average percentage of detectability was of 100,92%). The results showed that the method allows to objectively assess the quality of the syrup with the tansy flower extract.

Keywords: flavonoid, phenol carbonic acids, luteolin, tansy, syrup

В рамках расширения ассортимента и создания корригированных лекарственных форм пижмы ранее нами был разработан состав сиропа со спиртовым экстрактом пижмы 1:1. В медицине настой соцветий пижмы используют как противоглистное и желчегонное средство. Большинство исследователей связывают фармакологическую активность препаратов пижмы с наличием флавоноидов и эфирных масел.

Целью данного исследования явилась разработка методики количественного определения флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в сиропе пижмы.

При разработке методики руководствовались методиками количественного определения суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, приведенными в НД на сырье «цветки пижмы» и препарат «Танацехол» [2, 4, 5]. Предварительно был измерен УФ-спектр раствора сиропа. В УФ-спектре раствора сиропа, приготовленного для количественного определения (рис. 5), в области от 230 до 400 нм имеются максимумы поглощения при 255 ± 3 и 345 ± 3 нм, плечо при 300–312 нм и минимум при 277 ± 3 нм (рис. 1).

На основании полученных результатов подобраны оптимальные условия и предложена методика определения методом прямой спектрофотометрии суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в сиропе с экстрактом цветков пижмы с использованием в качестве стандартного образца лютеолина.

Методика. Около 0,5 г препарата (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в буферном растворе (pH 9,0), доводят тем же растворителем до метки, перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре СФ-2000 при длине волны 350 нм относительно буферного раствора (pH 9,0). Параллельно в тех же условиях измеряют оптическую плотность раствора ГСО лютеолина.

Содержание суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчёте на лютеолин в % (X) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 50} = \frac{D \cdot m_0 \cdot 2}{D_0 \cdot m},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора РСО лютеолина; m – навеска сиропа в г; m_0 – навеска лютеолина в г.

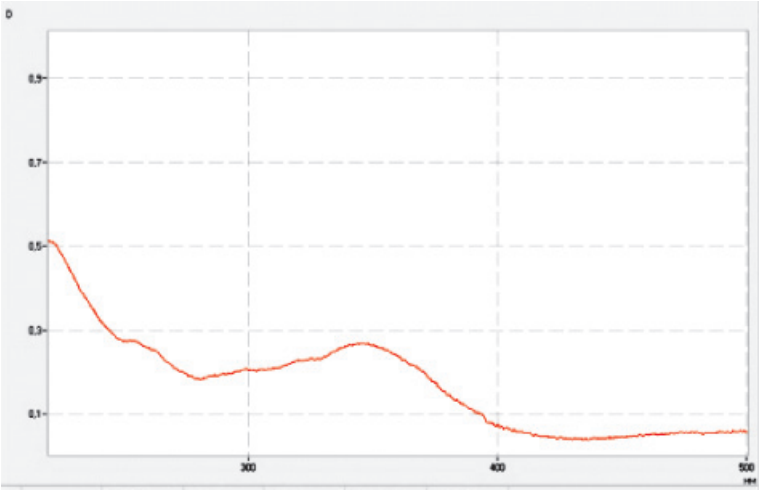

Рис. 1. Спектр поглощения сиропа с экстрактом цветков пижмы в буферном растворе (pH 9,0)

Валидация методики проводилась по следующим параметрам: линейности, повторяемости и правильности [1, 3].

Определение линейности проводили на 7 уровнях концентрации от теоретического содержания суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчёте на лютеолин в сиропе с экстрактом цветков пижмы. Растворы готовили путём уменьшения и увеличения используемой в методике количественного определения навески для получения концентраций 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200% соответственно и измеряли их оптическую плотность (табл. 1).

Критерием приемлемости линейности является коэффициент корреляции. Если его величина близка единице, то совокупность данных можно описать прямой линией. Нижний допустимый предел этой величины 0,99. Вычисление коэффициента корреляции проводили с помощью программы Microsoft Excel 2010 (рис. 2).

Таблица 1

Определение линейности разработанной методики

Навеска, %	Навеска, г	Оптическая плотность, *D*	Содержание суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчёте на лютеолин, мкг/мл
50	0,250	0,2755	3,81
75	0,300	0,3820	5,42
100	0,400	0,5196	7,20
125	0,500	0,6443	8,98
150	0,600	0,7752	10,78
175	0,700	0,8826	12,26

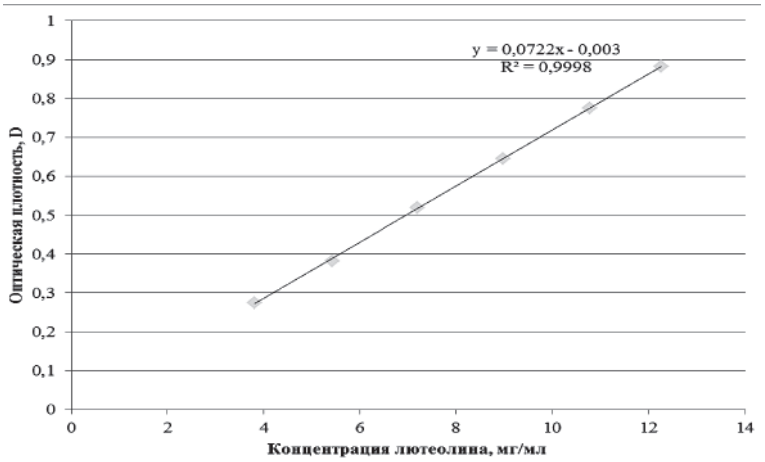

Рис. 2. Зависимость оптической плотности от концентрации лютеолина

Из рис. 2 видно, что почти все экспериментальные точки лежат на линии тренда. Значение коэффициента корреляции лежит в пределе $0,99 \leq R^2 \geq 1,0$, следовательно, область линейной зависимости наблюдается при концентрациях лютеолина от 3,81 до 12,26 мкг/мл.Прецизионность методики оценивали по первому уровню – повторяемости, которую определяли на одном образце экстракта в 6 повторностях (табл. 2).

Таблица 2

Определение повторяемости разработанной методики

Результат анализа %	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$	Метрологические характеристики
0,16	-0,0024	0,0000060	$\bar{X} = 0{,}16$ SD = 0,004 RSD = 2,37 %
0,16	-0,0023	0,0000054	
0,16	-0,0013	0,0000016	
0,17	0,0052	0,0000265	
0,16	-0,0037	0,0000133	
0,17	0,0045	0,0000205	

Относительное стандартное отклонение равно 2,37 % и не превышает величину RSD, предусмотренную для спектрофотометрических методов (3 %).

Таблица 3

Результаты определения величины случайной погрешности спектрофотометрического определения суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот

Навеска, г	Оптическая плотность	Содержание, %	Метрологические характеристики
0,4920	0,5728	0,16	$\bar{X} = 0{,}16$ $S = 0{,}0038$ $S_{\bar{X}} = 0{,}0016$ $\Delta\bar{x} = 0{,}0040$ $\varepsilon = \pm 2{,}48\,\%$
0,4992	0,5816	0,16	
0,5260	0,6169	0,16	
0,5026	0,6130	0,17	
0,5380	0,6216	0,16	
0,5178	0,6292	0,17	

Правильность методики устанавливали путём измерения количественного содержания суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в пересчёте на лютеолин в растворах, полученных путём добавления раствора стандартного образца с известным содержанием лютеолина к раствору сиропа с экстрактом цветков пижмы (метод добавок). Из каждой пробы делали по три независимых измерения. Результаты определений представлены на рис. 3 и в табл. 4.

Таблица 4

Определение правильности методики (результаты опытов с добавками) количественного определения суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в сиропе с экстрактом цветков пижмы

Содержание в исходном растворе сиропа, мкг/мл	Добавлено РСО лютеолина, мкг	Расчетное содержание, мкг/мл	Полученное содержание, мкг/мл	Открываемость, R, %
31,296	10,4	6,68	6,65	99,60
31,296	10,4	6,68	6,58	98,58
31,296	10,4	6,68	6,57	98,29
31,296	52,0	8,34	8,50	101,97
31,296	52,0	8,34	8,45	101,26
31,296	52,0	8,34	8,33	99,90
31,296	104,0	10,42	10,80	103,61
31,296	104,0	10,42	10,59	101,66
31,296	104,0	10,42	10,78	103,42
Метрологические характеристики: $\bar{X} = 100{,}92$; SD = 1,951; RSD = 1,93 %				

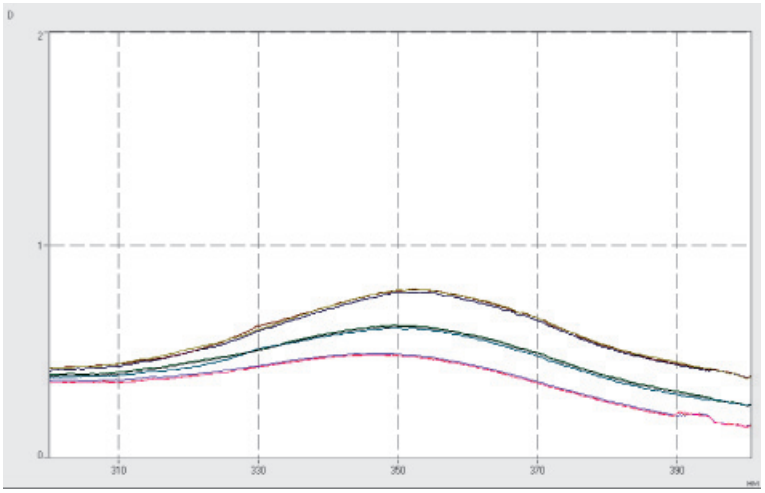

Рис. 3. Зависимость оптической плотности от концентрации лютеолина при определении правильности методики количественного определения флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в сиропе с экстрактом цветков пижмы

Критерий приемлемости – средний процент открываемости, скорректированный на 100 %, и её средняя величина должна находиться в пределах 97–103 % (согласно рекомендациям американской ассоциации аналитической химии (AOAC) при содержании анализируемого вещества больше 1 %). В разработанной методике средний процент открываемости составил 100,92 %, а относительное стандартное отклонение не превышает 3 %, что соответствует величине RSD, оптимальной для данного метода анализа.

На основании полученных результатов можно сделать вывод о пригодности данной методики для оценки качества сиропа с экстрактом цветков пижмы.

Выводы

1. Методом прямой спектрофотомерии установлено содержание суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в сиропе пижмы.

2. Проведена валидация разработанной методики по параметрам: воспроизводимость, повторяемость и правильность.

Список литературы

1. Арзамасцев А.П. Валидация аналитических методов / А.П. Арзамасцев, Н.П. Садчикова, Ю.Я. Харитонов // Фармация. – 2006. – № 4. – С. 8–12.

2. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырьё / МЗ СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1990. – Вып. 2. – 398 с.

3. Евдокимова О.В. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в столбиках с рыльцами кукурузы // Фармация. – 2008. – №7. – С. 14–17.

3. Куркина, А.В. Актуальные аспекты стандартизации сырья и препаратов пижмы обыкновенной / А.В. Куркина, А.И. Хусаинова // Медицинский альманах. – 2010. – №2. – С. 322–326.

4. ФСП 42-0171175101 Танацехол экстракт сухой.

Рецензенты:

Молчанов Г.И., д.фарм.н., профессор, профессор кафедры экономики и управления ГОУ ВПО «Российский государственный торгово-экономический университет» Пятигорский филиал, г. Пятигорск;

Маршалкин М.Ф., д.х.н., профессор кафедры химических дисциплин, Пятигорского технологического института, г. Пятигорск.

Работа поступила в редакцию 12.12.2011.