

УДК 615.454.1:[615.322:582.776.2].074:543.422.3.06

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА СПРЕЯ НА ОСНОВЕ ГУСТЫХ ЭКСТРАКТОВ ЭВКАЛИПТА ПРУТОВИДНОГО И СОЛОДКИ ГОЛОЙ

Крахмалев И.С., Губанова Л.Б., Хаджиева З.Д.

*ГБОУ ВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия»,
Пятигорск, e-mail: nachricht2008@rambler.ru*

В статье приведены результаты исследований по разработке методик качественного и количественного определения глицирризиновой кислоты и фенолоальдегидов в лекарственной форме спрей для наружного применения. Подтверждена специфичность качественных реакций на глицирризиновую кислоту и фенолоальдегиды эвкалипта прутовидного при их совместном нахождении в лекарственной форме. Приведены данные о влиянии эмульгатора твин-80 на спектральные характеристики глицирризиновой кислоты и фенолоальдегидов. Предложена методика количественного определения суммы фенолоальдегидов густого экстракта эвкалипта прутовидного в лекарственной форме методом спектрофотометрии. Разработана методика количественного определения глицирризиновой кислоты методом спектрофотометрии в предложенной лекарственной форме.

Ключевые слова: глицирризиновая кислота, фенолоальдегиды, спрей

DEVELOP QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS BASED SPRAY DENSE EXTRACT OF EUCALYPTUS VIMINALIS AND GLYCYRRHIZA GLABRA

Krahmalev I.S., Gubanov L.B., Hadzhieva Z.D.

Pyatigorsk state pharmaceutical academy, Pyatigorsk, e-mail: nachricht2008@rambler.ru

In article results of researches on working out of techniques of qualitative and quantitative definition glycyrrhizic acids and fenolaldegids in the medicinal form a spray for external application are resulted. Specificity of qualitative reactions on glycyrrhizic acid and fenolaldegids an eucalyptus viminalis is confirmed at their joint finding in the medicinal form. The data about influence of an emulsifier the twin-80 on spectral characteristics glycyrrhizic acids and fenolaldegids is cited. The technique of quantitative definition of the sum fenolaldegids a dense extract of an eucalyptus viminalis in the medicinal form by a method spectrophotometry is offered. The technique of quantitative definition glycyrrhizic acids by a method spectrophotometry in the offered medicinal form is developed.

Keywords: glycyrrhizic acid, fenolaldegids, spray

Анализ лекарственных средств, изготовленных на основе извлечений из лекарственного растительного сырья, сопряжен с рядом трудностей, связанных со сложностью химического состава входящих в него компонентов, а также наличием различных вспомогательных веществ, также осложняющих проведение качественного и количественного анализа. Поэтому при изготовлении препаратов на основе лекарственного растительного сырья особое место уделяется выбору оптимальных методик качественного и количественного анализа, позволяющих стандартизировать данные препараты, а также отслеживать их качество в процессе производства.

Разработанная лекарственная форма спрей для наружного применения на основе густых экстрактов эвкалипта прутовидного и солодки голой имеет следующий состав:

- Густого экстракта эвкалипта прутовидного – 2,0.
- Густого экстракта солодки голой – 2,0.
- Твин-80 – 3,0.
- Полиэтиленоксид с молекулярной массой 400 – 50,0.
- Воды очищенной до 100 мл.

Качественный анализ. Для идентификации глицирризиновой кислоты в препарате использовали качественную реакцию, описанную в ГФ XI издания. Для установления специфичности реакции готовили модельную смесь (без густого экстракта солодки). Навески испытуемого препарата, модельной смеси (около 1,0 мл), и глицирама (около 0,025 г) взбалтывали в течение 10 минут с 50 мл воды очищенной и фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента». При добавлении к трем фильтратам серной кислоты наблюдали выпадение осадка, который растворялся при добавлении раствора аммиака в фильтрах испытуемого препарата и глицирама. В фильтрате модельной смеси реакция была отрицательной.

Следовательно, качественная реакция с серной кислотой является специфичной для подтверждения подлинности глицирризиновой кислоты в препарате и позволяет проводить идентификацию глицирризиновой кислоты в присутствии других компонентов лекарственной формы, вспомогательных веществ и густого экстракта эвкалипта.

Идентификацию фенолоальдегидов в препарате, по которым стандартизирован эвкалипта листьев экстракт густой [ФСП 42-8556-07], проводили с помощью качественной реакции с ванилиновым реактивом [ГФ XI]. В качестве растворителя использовали спирт этиловый 95%.

Для установления специфичности реакции готовили модельную смесь (без густого экстракта эвкалипта). Навески испытуемого препарата, модельной смеси (около 1,0 мл), и эвкалимина (около 0,05 г) растворяли в 10 мл спирта этилового 95%. При добавлении к полученным спиртовым растворам модельной смеси испытуемого препарата и эвкалимина ванилинового реактива (ГФ XI) наблюдали красно-коричневое окраши-

вание в растворах испытуемого препарата и густого экстракта. В модельной смеси реакция была отрицательной.

Следовательно, качественная реакция с ванилиновым реактивом является специфичной для подтверждения подлинности фенолоальдегидов в препарате и позволяет проводить их идентификацию в присутствии других компонентов лекарственной формы, вспомогательных веществ и густого экстракта солодки.

Количественный анализ. Для разработки методики количественного определения действующих веществ (глицирризиновой кислоты и фенолоальдегидов) нами был зарегистрирован спектр поглощения раствора препарата в ультрафиолетовой области спектра (рис. 1).

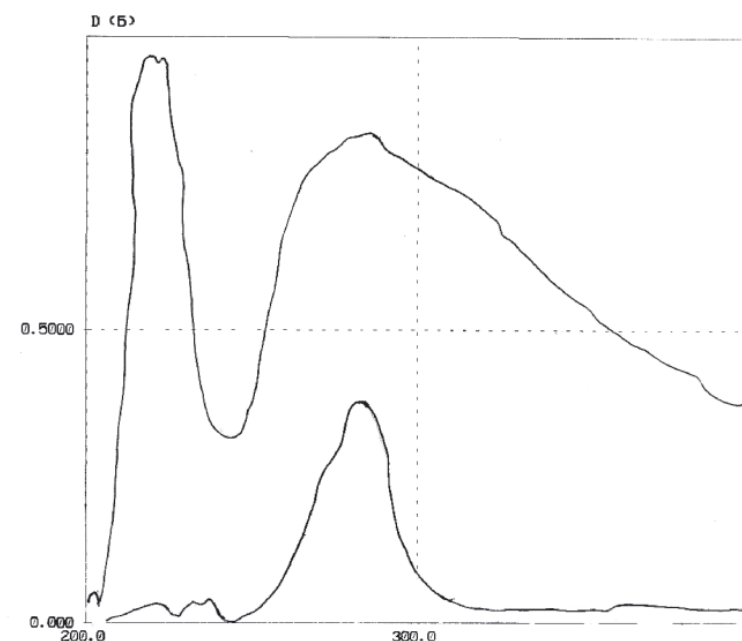


Рис. 1. УФ-спектр поглощения раствора препарата и раствора СО глициррама

Как следует из рисунка, спектр поглощения в ультрафиолетовой области имеет два максимума поглощения: при 220 нм и 278 нм. Предварительными исследованиями установлено, что максимум поглощения при 220 нм принадлежит твину-80, а максимум поглощения при 278 нм является суммарным для фенолоальдегидов и глицирризиновой кислоты вследствие солюбилизующей способности твина-80. Такое заключение позволило нам сделать проведение эксперимента, когда нами были зарегистрированы спектры поглощения растворов твина-80, твина-80 с густым экстрактом эвкалипта, твина-80 с густым экстрактом солодки в присутствии вспомогательных веществ. Установлено, что раствор твина-80 имеет максимум поглощения при 220 нм, раствор модельной смеси

с твином-80 и густым экстрактом солодки — при 220 и 278 нм, раствор модельной смеси с твином-80 и густым экстрактом эвкалипта — при 220 и 278 нм.

Однако известно, что количественное содержание фенолоальдегидов можно проводить по реакции с раствором железа(III) хлорида при 600 нм в пересчете на эвкалимин [ФСП 42-06016427-05 «Эвкалимин»].

В связи с этим нами был зарегистрирован спектр поглощения раствора препарата после реакции с раствором железа(III) хлорида в видимой области спектра (растворитель спирт этиловый 95% подкисленный) (рис. 2).

Как следует из рисунка, спектр поглощения имеет один максимум поглощения при 600 нм, который обеспечивают продукты реакции железа(III) хлорида с фенолоальдегидами.

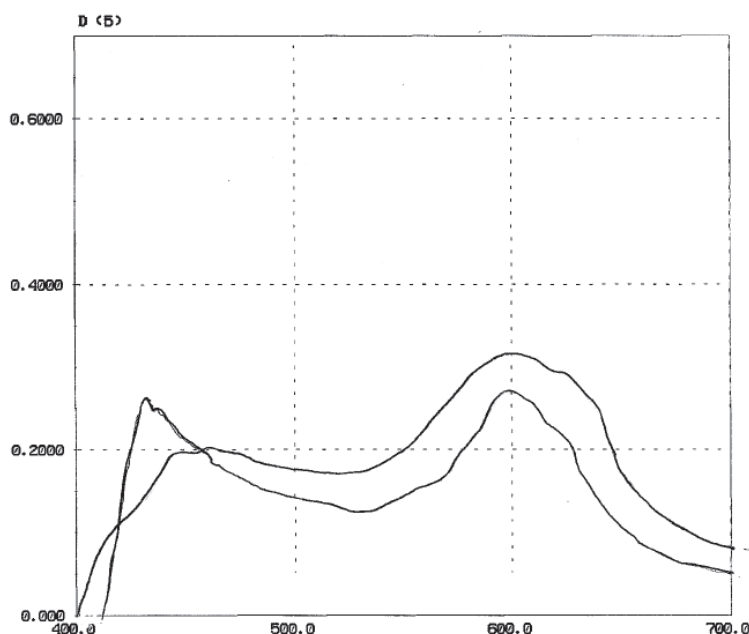


Рис. 2. Спектры поглощения растворов, содержащих продукты реакции препарата и раствора СО эвкалимина с железа(III) хлоридом

Параллельно были зарегистрированы спектры поглощения растворов продуктов реакции с железа(III) хлоридом твина-80 и твина-80 с густым экстрактом солодки в присутствии вспомогательных веществ. Растворы этих модельных смесей максимума поглощения при 600 нм не имеют.

Следовательно, определение количественного содержания фенолоальдегидов можно проводить по реакции с железа(III) хлоридом, используя значение оптической плотности при 600 нм.

Содержание суммы фенолоальдегидов можно использовать для расчета содержания кислоты глицирризиновой в препарате.

Определение содержания фенолоальдегидов в препарате. В состав 100 г препарата входит 2,0 г густого экстракта эвкалипта, содержание в нем фенолоальдегидов нормируется ФСП 42-8556-07 (не менее 40%). Следовательно, в разработанном нами препарате содержание фенолоальдегидов должно быть не менее 0,80%.

Методика. Точную навеску препарата (около 5,0 г) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 80 мл подкисленного спирта этилового 95%, доводили объем колбы до метки тем же растворителем, хорошо перемешивали (раствор 1). Затем в мерную колбу вместимостью 25 мл переносили 10 мл раствора 1, прибавляли 1 мл спиртового раствора железа(III) хлорида и доводили объем раствора в колбе до метки тем же растворителем, перемешивали (раствор 2).

Оптическую плотность раствора 2 измеряли при длине волны 600 нм. В качестве раствора сравнения использовали подкисленный спиртовой раствор железа(III) хлорида.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО эвкалимина.

Содержание суммы фенолоальдегидов (%) в препарате в пересчете на эвкалимин вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot a_o \cdot V_{a_0} \cdot W_{x_1} \cdot W_{x_2} \cdot 100}{A_o \cdot a_x \cdot W_{o_1} \cdot W_{o_2} \cdot V_{a_x}}$$

где A_x и A_o – оптические плотности анализируемого раствора и раствора СО эвкалимина; a_o – масса эвкалимина, взятая для приготовления раствора СО, г; a_x – навеска препарата, взятая на анализ, г; W_{o_1} и W_{o_2} , W_{x_1} и W_{x_2} – объемы мерных колб, использованных для приготовления раствора СО эвкалимина и испытуемого раствора, мл; V_{a_0} и V_{a_x} – объемы аликвот раствора СО эвкалимина и испытуемого раствора соответственно, мл;

Приготовление раствора СО эвкалимина. Около 0,05 г (точная навеска) СО эвкалимина [ФС 42-3606-98] помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 80 мл подкисленного спирта этилового 95%, перемешивали. Объем раствора в колбе доводили до метки тем же растворителем. 10 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 1 мл раствора железа(III) хло-

рида спиртового, доводили объем раствора в колбе до метки спиртом этиловым 95% подкисленным, перемешивали. Раствор использовали свежеприготовленным.

Приготовление спирта этилового 95% подкисленного. 1 мл 1% раствора кислоты хлористоводородной прибавляли к 100 мл спирта этилового 95%, перемешивали.

Таблица 1

Результаты количественного определения суммы фенолоальдегидов в препарате ($a_o = 0,0500$; $A_o = 0,344$)

Навеска препарата, г	Значение оптической плотности (λ 600 нм)	Найдено фенолоальдегидов, %	Метрологические характеристики
5,0020	0,284	0,826	$\bar{x} = 0,820$ $S_{\bar{x}} = 0,005373$ $\Delta x = 0,01381$ $x \pm \Delta x = 0,820 \pm 0,014$ $\varepsilon = 1,71\%$
4,9876	0,276	0,802	
5,1260	0,281	0,817	
5,1070	0,288	0,837	
4,9698	0,285	0,828	
4,9910	0,278	0,808	

Как следует из табл. 1, содержание фенолоальдегидов в препарате в пересчете на эвкалимин составило $0,820 \pm 0,014\%$, а относительная погрешность определения – 1,71%.

Определение глицирризиновой кислоты в препарате. В состав 100 г препарата входит 2 г густого экстракта солодки, содержание в нем глицирризиновой кислоты нормируется ГФ Х (не менее 14%). Следовательно, в разработанной нами мази содержание глицирризиновой кислоты в пересчете на глицирам должно быть не менее 0,28%.

Содержание суммы фенолоальдегидов, найденное выше, можно использовать для расчета содержания кислоты глицирризиновой в препарате.

В основе данных расчетов лежит закон аддитивности оптических плотностей. Поэтому из значения суммарного поглощения раствора препарата при 278 нм вычитали значение оптической плотности суммы фенолоальдегидов, полученное расчетным путем.

Методика. Точную навеску препарата (около 1,0 г) помещали в мерную колбу

вместимостью 100 мл, растворяли в 80 мл спирта этилового 95%, доводили объем раствора в колбе до метки тем же растворителем, хорошо перемешивали. Оптическую плотность раствора измеряли при длине волны 278 нм. В качестве раствора сравнения использовали спирт этиловый 95%.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО глицирама.

Приготовление раствора СО глицирама. Точную навеску СО глицирама (около 0,025 г) растворяли в мерной колбе вместимостью 50 в 20 мл спирта этилового 50% и доводили объем раствора до метки тем же растворителем. Аликвоту в количестве 2 мл помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и объем раствора в колбе доводил до метки водой очищенной. Оптическую плотность измеряли при длине волны 278 нм. Раствор сравнения – вода очищенная.

Содержание глицирризиновой кислоты (%) в пересчете на глицирам рассчитывали по формуле:

$$X_{\%} = \frac{(A_{\text{сумм.278}} - A_{\text{экр.рассч.278}}) \cdot a_o \cdot V_{a_o} \cdot W_x \cdot 100\%}{A_{o_{\text{глин.278}}} \cdot W_{o_1} \cdot W_{o_2} \cdot a_x},$$

где $A_{\text{сумм.278}}$, $A_{\text{экр.рассч.278}}$, $A_{o_{\text{глин.278}}}$ – значение оптической плотности испытуемого раствора при 278 нм, расчетное значение оптической плотности для суммы фенолоальдегидов густого экстракта эвкалипта при 278 нм, и значение оптической плотности раствора СО глицирама при 278 нм соответственно; a_x и a_o – массы навесок препарата и СО глицирама соответственно, г; W_x , W_{o_1} и W_{o_2} – объемы мерных колб, использованных для разведения испытуемого и стандартного растворов соответственно, мл; V_{a_o} – объем аликвоты при разбавлении раствора стандартного образца, мл.

$$A_{\text{экр.рассч.278}} = \frac{A_{o_{\text{экр.278}}} \cdot C_{\text{фенолоальд}_{600}} \cdot V_{a_x}}{C_{o_{\text{экр}}} \cdot W_{x_1} \cdot W_{x_2}},$$

где $A_{\text{экр.рассч.278}}$ – расчетное значение оптической плотности для суммы фенолоальдегидов густого экстракта эвкалипта при 278 нм; $A_{o_{\text{экр.рассч.278}}}$ – значение оптической плотности раствора СО эвкалимина при 278 нм; $C_{\text{фенолоальд}_{600}}$ – содержание суммы фенолоальдегидов, найденное по реакции с железом(III) хлоридом при 600 нм, г/мл; $C_{o_{\text{экр}}}$ – концентрация раствора СО эвкалимина, г/мл; V_{a_x} , W_{x_1} и W_{x_2} – объемы мерных колб и аликвоты,

использованные для разведения испытуемого препарата, мл.

Результаты расчетов и определений приведены в табл. 2

Таблица 2

Результаты определения содержания глицирризиновой кислоты в препарате

$$(a_0 = 0,0250 \text{ г}; A_{0_{\text{экв.расч.278}}} = 0,318; A_{0_{\text{глиц.278}}} = 0,396)$$

Навеска препарата, г	Значение оптической плотности		Найдено, %		Метрологические характеристики
	λ 278 нм (сумм.)	λ 278 нм, расчетное (эвк.)	кислоты глицирризиновой	суммы фенолоальдегидов	
1,0011	0,804	0,525	0,282	0,826	$\bar{x} = 0,294$ $S_x = 0,004389$ $\Delta x = 0,01128$ $x \pm \Delta x = 0,294 \pm 0,011$ $\varepsilon = 3,74\%$
1,0089	0,803	0,510	0,293	0,802	
1,0256	0,822	0,520	0,297	0,817	
0,9987	0,841	0,532	0,312	0,837	
1,0004	0,818	0,527	0,294	0,828	
1,0112	0,798	0,514	0,284	0,808	

Как следует из табл. 2, содержание кислоты глицирризиновой в препарате в пересчете на глицирам составило $0,294 \pm 0,011\%$, а относительная погрешность определения – $3,74\%$.

Список литературы

1. Вопросы стандартизации препарата «Хлорофиллипта раствор в масле 2%» / И.Н. Зилфикаров [и др.] // Фармация. – 2007. – №3. – С. 7–9.
2. Зилфикаров И.Н. Новые подходы в разработке и стандартизации фитопрепаратов из эфиромасличного сырья: дис. ... д-ра фарм. наук: 15.00.02. – Пятигорск, 2008. – 290 с.
3. Зилфикаров И.Н. Совершенствование стандартизации сырья и фитопрепаратов эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* L., сем. Myrtaceae) // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2007. – Вып. 62. – С. 57–59.
4. Самылина И.А. Проблемы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных средств // Традиционная медицина и питание: теоретические и практические аспекты: материалы 1-го Международного научного конгресса. – М.: Институт традиционных методов лечения МЗ РФ и др., 1994. – С. 203
5. Хаджиева З.Д. Определение глицирризиновой кислоты в сырье и препаратах солодки голой методом ВЭЖХ // Вестник новых медицинских технологий. – Тула, ТГМУ, 2006. – Вып. 10. – С. 108–109.
6. Хаджиева З.Д. Разработка методик качественного и количественного анализа фенолоальдегидов в мази хлорофиллипта / З.Д. Хаджиева, Л.Б. Губанова, Е.А. Теунова // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 2 (Электронный журнал). Вопросы стандартизации препарата «Хлорофиллипта раствор в масле 2%» / И.Н. Зилфикаров [и др.] // Фармация. – 2007. – №3. – С. 7–9.
7. Зилфикаров, И.Н. Новые подходы в разработке и стандартизации фитопрепаратов из эфиромасличного сырья: дис. д-ра фарм. наук: 15.00.02 / Зилфикаров Ифрат Назимович. – Пятигорск, 2008. – 290 с.
8. Зилфикаров, И.Н. Совершенствование стандартизации сырья и фитопрепаратов эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* L., сем. Myrtaceae) / И.Н. Зилфикаров // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2007. – Вып. 62. – С. 57–59.
9. Самылина И.А. Проблемы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных средств // Традиционная медицина и питание: теоретические и практические аспекты: материалы 1-го Международного научного конгресса. – М.: Институт традиционных методов лечения МЗ РФ, 1994. – С. 203.
10. Хаджиева З.Д. Определение глицирризиновой кислоты в сырье и препаратах солодки голой методом ВЭЖХ // Вестник новых медицинских технологий. – Тула, ТГМУ, 2006. – Вып. 10. – С. 108–109.
11. Хаджиева З.Д. Разработка методик качественного и количественного анализа фенолоальдегидов в мази хлорофиллипта / З.Д. Хаджиева, Л.Б. Губанова, Е.А. Теунова // Современные

проблемы науки и образования. – 2011. – № 2 (Электронный журнал). <http://www.science-education.ru/96-4637>.

References

1. Voprosy standartizacii preparata «Khlорофиллипта раствор в масле 2%» / I.N. Zilfikarov [i dr.] // Farmacija. 2007. no. 3. pp. 7–9.
2. Zilfikarov, I.N. Novye podkhody v razrabotke i standartizacii fitopreparatov iz ehfiromaslichnogo syr'ja: dis. dokt. farmac. nauk: 15.00.02 / Zilfikarov Ifrat Nazimovich. – Pjatigorsk, 2008. 290 p.
3. Zilfikarov, I.N. Sovershenstvovanie standartizacii syr'ja i fitopreparatov ehvkalipta prutovidnogo (*Eucalyptus viminalis* L., sem. Myrtaceae) / I.N. Zilfikarov // Razrabotka, issledovanie i marketing novojj farmaceuticheskoj produkcii: sb. nauch. tr. Pjatigorsk, 2007. Vyp. 62. pp. 57–59.
4. Samylina, I.A. Problemy standartizacii lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ja i lekarstvennykh rastitel'nykh sredstv//Tradicionnaja medicina i pitanie: teoreticheskie i prakticheskie aspekty: Materialy 1-go Mezhdunarodnogo nauchnogo kongressa.-M.: Institut tradicionnykh metodov lechenija MZ RF idr., 1994. pp. 203.
5. Khadzhieva, Z.D. Opredelenie glicirrizinovovoj kisloty v syr'e i preparatakh solodki golojj metodom VEHZhKh / Z.D. Khadzhieva // Vestnik novykh medicinskih tekhnologijj. Tula, TGMU, 2006. Vyp. 10. pp. 108–109.
6. Khadzhieva, Z.D. Razrabotka metodik kachestvennogo i kolichestvennogo analiza fenoloal'degidov v mazi khlorofillipta/ Z.D. Khadzhieva, L.B. Gubanova, E.A. Teunova // Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. 2011. no. 2 (Ehlektronnyj zhurnal). Voprosy standartizacii preparata «Khlорофиллипта раствор в масле 2%» / I.N. Zilfikarov [i dr.] // Farmacija. 2007. no. 3. pp. 7–9.
7. Zilfikarov, I.N. Novye podkhody v razrabotke i standartizacii fitopreparatov iz ehfiromaslichnogo syr'ja: dis. dokt. farmac. nauk: 15.00.02 / Zilfikarov Ifrat Nazimovich. Pjatigorsk, 2008. 290 p.
8. Zilfikarov, I.N. Sovershenstvovanie standartizacii syr'ja i fitopreparatov ehvkalipta prutovidnogo (*Eucalyptus viminalis* L., sem. Myrtaceae) / I.N. Zilfikarov // Razrabotka, issledovanie i marketing novojj farmaceuticheskoj produkcii: sb. nauch. tr. Pjatigorsk, 2007. Vyp. 62. pp. 57–59.
9. Samylina, I.A. Problemy standartizacii lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ja i lekarstvennykh rastitel'nykh sredstv//Tradicionnaja medicina i pitanie: teoreticheskie i prakticheskie aspekty: Materialy 1-go Mezhdunarodnogo nauchnogo kongressa. M.: Institut tradicionnykh metodov lechenija MZ RF idr., 1994. pp. 203.
10. Khadzhieva, Z.D. Opredelenie glicirrizinovovoj kisloty v syr'e i preparatakh solodki golojj metodom VEHZhKh / Z.D. Khadzhieva // Vestnik novykh medicinskih tekhnologijj. Tula, TGMU, 2006. Vyp. 10. pp. 108–109.
11. Khadzhieva, Z.D. Razrabotka metodik kachestvennogo i kolichestvennogo analiza fenoloal'degidov v mazi khlorofillipta/ Z.D. Khadzhieva, L.B. Gubanova, E.A. Teunova // Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. 2011. no. 2 (Ehlektronnyj zhurnal). <http://www.science-education.ru/96-4637>.

Рецензент –

Молчанов Г.И., д.фарм.н., профессор кафедры социально-гуманитарных наук Пятигорского филиала ГОУ ВПО Северо-Кавказского ГТУ, г. Пятигорск.

Работа поступила в редакцию 16.04.2012