

Разработка методики ВЭЖХ-анализа разных форм препарата на основе экстракта маклеи сердцевидной

Л.Р. Сулейманова, К.Е. Титова

Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Самара, Россия

Обоснование. В фармакопейную статью, определяющую порядок контроля препарата на основе настойки маклеи, заложен только фотометрический метод количественного анализа [1]. С целью обеспечения качества при производстве всех форм данного фармакологического препарата предлагается разработать методику анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Цель — разработать методику ВЭЖХ-анализа таблетированной и жидкой формы препарата на основе экстракта маклеи сердцевидной.

Методы. Объектом исследования являлся препарат Сангвиритрин в форме спиртовой настойки и таблетированной форме, приобретенные в аптечной сети. В качестве подвижной фазы (ПФ) использовался раствор додецилсульфата натрия (ДСН) и ацетонитрил [2]; 0,01М фосфатный буфер и метанол [3]; 0,01М ацетат аммония [4]. Работу проводили на ВЭЖХ-системе AZURA Knauer, колонка Phenomenex 250 × 4,6 мм, С18 5 мкм. Детектирование осуществляли спектрофотометрическим детектором при $\lambda = 270$ нм, диодно-матричным детектором в диапазоне длин волн с 200 до 700 нм.

Результаты. Элюирование компонентов на хроматограмме получено при 60 % 0,0005 М ДСН pH = 2,8 и 40 % ацетонитрила, изократический режим элюирования, pH~3. Аналогичный анализ с использованием диодно-матричного детектора показал наложение пиков нескольких веществ в области пиков сангвинарина и хелеритрина. В препарате выявлено содержание гомологов сангвинарина и хелеритрина, поэтому дальнейшее исследование направлено на их разделение. Классический состав ПФ в виде 0,01М фосфатного буфера и ацетонитрила, а также ПФ из ацетонитрила, метанола, фосфатного буфера в соотношении 20 : 40 : 40 позволили получить на хроматограмме 4 пика. Полного разделения компонентов в этих случаях не произошло.

Далее было решено скомбинировать в водной части подвижной фазы додецилсульфат натрия и фосфатный буфер для реализации всех способов взаимодействия сорбат-сорбент в одном анализе.

Оптимальные результаты были получены при разделении в изократическом режиме элюирования с ПФ 60 % 0,0005М ДСН 0,01М фосфатный буфер pH = 2,8 и 40 % ацетонитрила (рис. 1). Пик со временем удерживания $t_R = 22,8$ мин соответствует сангвинарину, пик с $t_R = 37,9$ мин — хелеритрину. Данный метод позволяет получить наиболее полный компонентный состав.

Следующим этапом опробована подвижная фаза: 60 % 0,01М ацетат аммония pH~3 и 40 % ацетонитрила, изократический режим (рис. 2).

Удалось получить два пика на хроматограмме, соответствующих сангвинарину $t_R = 9,6$ мин и хелеритрину $t_R = 12,68$ мин, время анализа составляет 15 минут. Данный метод является оптимальным для проведения больших серий анализов, где необходимо оценивать суммарное содержание действующих веществ и их производных, так как является наиболее быстрым из всех опробованных.

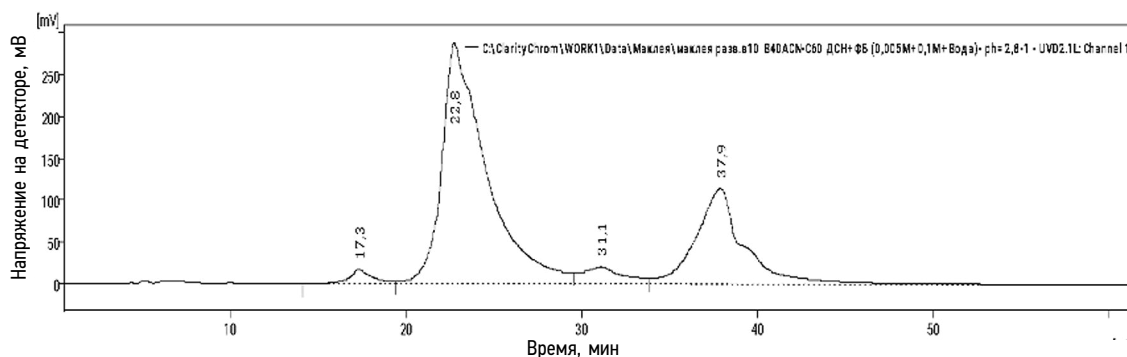


Рис. 1. ВЭЖХ-анализ с комбинированной подвижной фазой

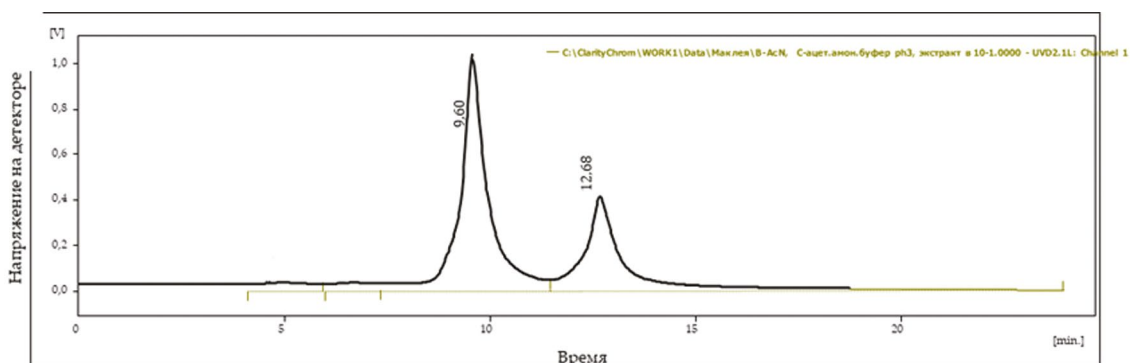


Рис. 2. ВЭЖХ-анализ с подвижной фазой на основе ацетата аммония

Пробоподготовка для формы препарата в виде настойки осуществлялась путем разбавления препарата до корректных значений площадей пиков аналитов. Для таблетированной формы было опробовано четыре метода пробоподготовки: растворение с предварительным соскабливанием оболочки с помощью стеклянной палочки, растворение с помощью перемешивающего устройства Vortex, растворение с использованием ультразвука в течение 3 и 10 минут. В приведенных методах расчетная концентрация растворов составляет 0,5 мг/мл.

Чувствительность методики определяли путем разбавления растворов препарата и расчета концентрации действующих компонентов. Установлено, что минимальная концентрация аналитов, определяемая данной методикой, соответствует 0,65 мкг/мл для жидкой и таблетированной формы, растворенной с воздействием ультразвука в течение 10 минут, соответственно, не происходит потери аналита. В остальных методах пробоподготовки наблюдаются незначительные потери действующих веществ.

Выводы. Получены два оптимальных метода анализа: для получения подробного компонентного состава и для получения больших серий анализов. Выбранный метод количественного анализа является воспроизводимым, чувствительность методики составляет 0,65 мкг/мл суммарно содержания алкалоидов.

Ключевые слова: сангвиритрин; сангвинарин; хелеретрин; ВЭЖХ; додецилсульфат натрия; ацетат аммония.

Список литературы

1. ФС.42-2666-89 Фармакопейная статья. Министерство здравоохранения Российской Федерации. 5 с.
2. Моисеев Д.В. Определение алкалоидов в траве чистотела большого и листьях маклеи сердцевидной методом ВЭЖХ // Бултеровские сообщения. 2013. Т. 36, № 11. С. 134–138. EDN: RVKCFT
3. Сычев С.Н. Разработка методов и средств контроля состава смесей органических соединений на основе диполь-полевой теории удерживания высокоэффективной жидкостной хроматографии: дис. ... д-ра техн. наук: защищена. Орел, 2005. 334 с.
4. Zhao W.-J., Chen X.-Y., Liu Y.-Q., et al. Liquid chromatographic separation of alkaloids in herbal medicines: Current status and perspectives // J Sep Sci. 2020. Vol. 43, N 9-10. P. 1755–1772. doi: 10.1002/jssc.202000081

Сведения об авторах:

Лия Ринатовна Сулейманова — студентка, группа 4425-280302D, направление «Наноинженерия»; Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Самара, Россия. E-mail: liyasul2002@mail.ru

Кристина Евгеньевна Титова — студентка, группа 4425-280302D, направление «Наноинженерия»; Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Самара, Россия. E-mail: christine03@yandex.ru

Сведения о научном руководителе:

Лариса Викторовна Павлова — кандидат химических наук, доцент кафедры химии; Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Самара, Россия. E-mail: lora-pavlova@mail.ru