

М.А. Огай<sup>1</sup>, Э.Ф. Степанова<sup>2</sup>,  
Л.П. Ларионов<sup>3</sup>, А.Ю. Петров<sup>3</sup>,  
Н.А. Великанова<sup>1</sup>, М.А. Веретенникова<sup>1</sup>

## ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕЛЕЙ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ

Воронежский государственный университет<sup>1</sup>,  
Пятигорская государственная фармацевтическая  
академия<sup>2</sup>.

Уральская государственная медицинская академия<sup>3</sup>

**Введение.** Возрастающие требования к качеству лекарственных средств, в том числе на основе сырья растительного происхождения, вызвало необходимость разработки более совершенных методов и методик стандартизации фитопрепаратов. Эта задача может быть решена с использованием основных классов действующих веществ, входящих в состав готовой лекарственной формы, таких как флавоноиды, сапонины, органические кислоты и др. Проблема качественного и количественного определения (В.В. Дячок и соавторы, 2004) всех составляющих является достаточно сложной задачей с точки зрения выбора аналитического метода и его инструментального оформления. Комплексные фитопрепараты были до недавнего времени мало представлены с точки зрения качественного и количественного определения.

Объективно обоснованным решением задач такого типа является определение действующих веществ по наиболее весоному или характерному составляющему компоненту (например, флавоноидов по рутину или кверцетину).

**Методы исследования.** В состав разработанных фитогелей входили спиртовые извлечения из лекарственного растительного сырья. Фитогель 1 включает спиртоводное извлечение из зверобоя продырявленного, прополис, облепиховое масло и вспомогательные вещества; фитогель 2 – спиртоводные извлечения из лавра благородного, эхинацеи пурпурной, солодки голой, донника лекарственного, сок алоэ, индивидуальный препарат таурин и комплекс вспомогательных веществ. Ранее была доказана ранозаживляющая активность разра-

ботанных гелей у животных с экспериментальной патологией – аллоксановым диабетом [1].

Для качественного анализа индивидуальных и комплексных спиртовых извлечений использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) [2]. На хроматограмме обнаружены зоны, для которых значения  $R_f$  совпадают с таковыми для рутина ( $R_f = 0,31$ ).

Исследование методом тонкослойной хроматографии проводили хроматографированием в системе *n*-бутанол : ледяная уксусная кислота : вода (5 : 1 : 1). На линию старта пластинки фирмы «Sorbfil» размером 10x10 см со слоем силикагеля марки СТХ-1А наносили микропипеткой по 30 мкл диализной жидкости из фитогелей 1 и 2, а также 10 мкл 1% раствора свидетеля – рутина. Хроматографическую пластинку помещали в камеру, предварительно насыщенную парами элюэнта в течение 6 ч, а затем хроматографировали восходящим способом. После прохождения фронта растворителей 10 см, пластинку вынимали, высушивали на воздухе до исчезновения запаха растворителей и рассматривали в видимом и УФ-свете при длине волны 254 нм. В видимом свете обнаружены зоны желтого цвета, в УФ-свете они проявляются в виде пятен с синей флуоресценцией.

Затем пластинки опрыскивали 0,1%-м раствором ванилина в концентрированной серной кислоте, нагревали 3 мин при 80°C и рассматривали в видимом свете.

Результаты хроматографического анализа суммы флавоноидов изображены на рисунке 1.

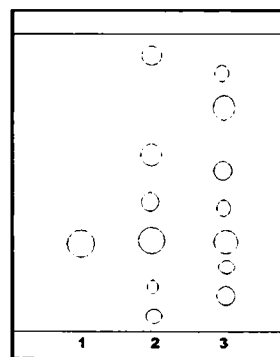


Рис. 1. Результаты хроматографического анализа. На хроматограмму нанесены: 1 – раствор рутина; 2 – извлечение из фитогеля 1; 3 – извлечение из фитогеля 2.

Спектрофотометрический анализ (СФ) используется для установления качественного и количественного состава, подлинности лекарственных средств, определения степени их чистоты. СФ характеризуется чувствительностью и высокой точностью. Данный метод анализа используют для количественного определения ингредиентов в одно- и многокомпонентных составах. В последних, в том случае, если спектр поглощения анализируемого компонента имеет участок, свободный от наложения светопоглощения мешающих ингредиентов (либо поглощение очень мало, что ими можно пренебречь).

Спектрофотометрический анализ проводили на приборе СФ-46 ломо [3, 4]. Комплексообразование флавоноидов с хлоридом алюминия

приводит к батохромному сдвигу полосы поглощения УФ-спектра.

Максимумы поглощения окрашенных продуктов реакции суммы флавоноидов с  $AlCl_3$  представлены в табл. 1.

Таблица 1

| Исследуемый образец               | Максимум поглощения, нм |
|-----------------------------------|-------------------------|
| РСО рутина                        | $413 \pm 2$ нм          |
| Фитогель 1                        | $413 \pm 2$ нм          |
| Фитогель 2                        | $413 \pm 2$ нм          |
| Основа (сплав ПЭО-400 и ПЭО-1500) | Нет максимума           |

Спектр поглощения основы не имеет максимума и соответственно не накладывается на спектр комплексного фитопрепарата, им можно пренебречь. Полученные спектры изображены на рисунке 2.

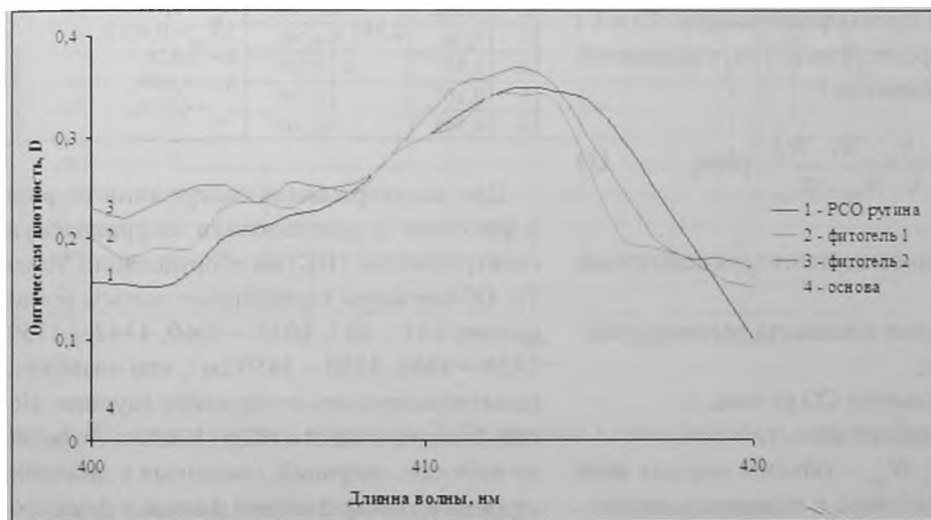


Рис. 2. Спектры поглощения фитогелей 1 и 2, основы и стандартного образца рутина

Для проведения анализа точные навески фитогелей (около 3,0 г) нагревали на водяной бане с 30 мл спирта этилового 96% для осаждения основы. Полученный раствор фильтровали в мерную колбу на 50 мл, фильтр дважды (по 10 мл) промывали спиртом этиловым 96%, фильтрат охлаждали и доводили до метки тем же растворителем (испытуемый раствор А).

Аликвоты (5 мл для фитогеля 1 и 2 мл для фитогеля 2) раствора А переносили в мерную колбу на 25 мл, прибавляли 10 мл 96% спирта

этилового и 3 мл 5% раствора алюминия хлорида спиртового, нагревали на кипящей водяной бане в течение 10 мин; охлаждали до комнатной температуры, прибавляли 0,1 мл кислоты уксусной ледяной, перемешивали и фильтровали через фильтр «синяя лента» в мерную колбу вместимостью 25 мл, ополаскивали фильтр и колбу 96% спиртом этиловым, доводили объем раствора тем же спиртом до метки, перемешивали и проводили определение.

Измеряли также оптическую плотность раствора стандартного образца рутина, для чего с 1 мл этого раствора поступали, как указано выше.

В качестве раствора сравнения использовали смесь из 3 мл 5% раствора алюминия хлорида и 0,1 мл кислоты уксусной ледяной, которую в колбе на 25 мл доводили до метки 96% спиртом этиловым.

Оптическую плотность полученных растворов регистрировали при длине волны 413 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Приготовление раствора СО рутина: около 0,0125 (т.н.) ГСО рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135°C в течение 3 ч, растворяли в 96% спирте в мерной колбе на 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждали, доводили объем раствора до метки 96% спиртом и перемешивали.

Содержание суммы флавоноидов (X) в 1 г препарата, в пересчете на рутин, в процентах, вычисляли по формуле 1:

$$X = \frac{D_1 \cdot m_{ст} \cdot V_{ст} \cdot W_1 \cdot W_2}{D_{ст} \cdot m_1 \cdot V \cdot W_{1ст} \cdot W_{2ст}} \cdot 100\% \quad (1)$$

где:  $D_1$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

$D_{ст}$  – оптическая плотность раствора рабочего СО рутина;

$m_{ст}$  – масса навески СО рутина, г;

$m_1$  – масса навески мази, г;

$W_1, W_2, W_{1ст}, W_{2ст}$  – объемы мерных колб испытуемого раствора и стандарта соответственно, мл;

$V, V_{ст}$  – аликвоты испытуемого раствора и стандарта соответственно, мл.

Результаты определения содержания суммы флавоноидов в фитогеле 1 в пересчете на рутин приведены в табл. 2.

Таблица 2

| № п/п | D <sub>1</sub> | D <sub>0</sub> | X, %  | Метрологические характеристики   |
|-------|----------------|----------------|-------|--|
| 1     | 0,335          | 0,349          | 0,040 | X <sub>ср</sub> = 0,040;<br>ΔX <sub>ср</sub> = 0,0007;<br>S = 0,06;<br>S <sub>x</sub> = 0,025;<br>ε <sub>ср</sub> = 0,02%. |
| 2     | 0,340          |                | 0,041 |  |
| 3     | 0,330          |                | 0,039 |  |
| 4     | 0,342          |                | 0,041 |  |
| 5     | 0,332          |                | 0,039 |  |
| 6     | 0,338          |                | 0,040 |  |

Результаты определения содержания суммы флавоноидов в фитогеле 2 в пересчете на рутин приведены в табл. 3.

Таблица 3

| № п/п | D <sub>1</sub> | D <sub>0</sub> | X, %  | Метрологические характеристики  |
|-------|----------------|----------------|-------|---|
| 1     | 0,366          | 0,349          | 0,109 | X <sub>ср</sub> = 0,108;<br>ΔX <sub>ср</sub> = 0,0012;<br>S = 0,023;<br>S <sub>x</sub> = 0,009;<br>ε <sub>ср</sub> = 0,01%. |
| 2     | 0,352          |                | 0,105 |   |
| 3     | 0,361          |                | 0,108 |   |
| 4     | 0,357          |                | 0,107 |   |
| 5     | 0,367          |                | 0,109 |   |
| 6     | 0,368          |                | 0,109 |   |

Для подтверждения содержания таурина в фитогеле 2 использовали инфракрасную спектроскопию (ИК) на оборудовании Vertex 70. Обнаружены характерные полосы поглощения: 841 – 887, 1033 – 1060, 1342 – 1359, 1420 – 1460, 3150 – 3450 см<sup>-1</sup>, что позволило идентифицировать содержание таурина. Использование данного оборудования позволило избежать операций, связанных с диализом таурина из лекарственной формы и формирования диска с калия бромидом.

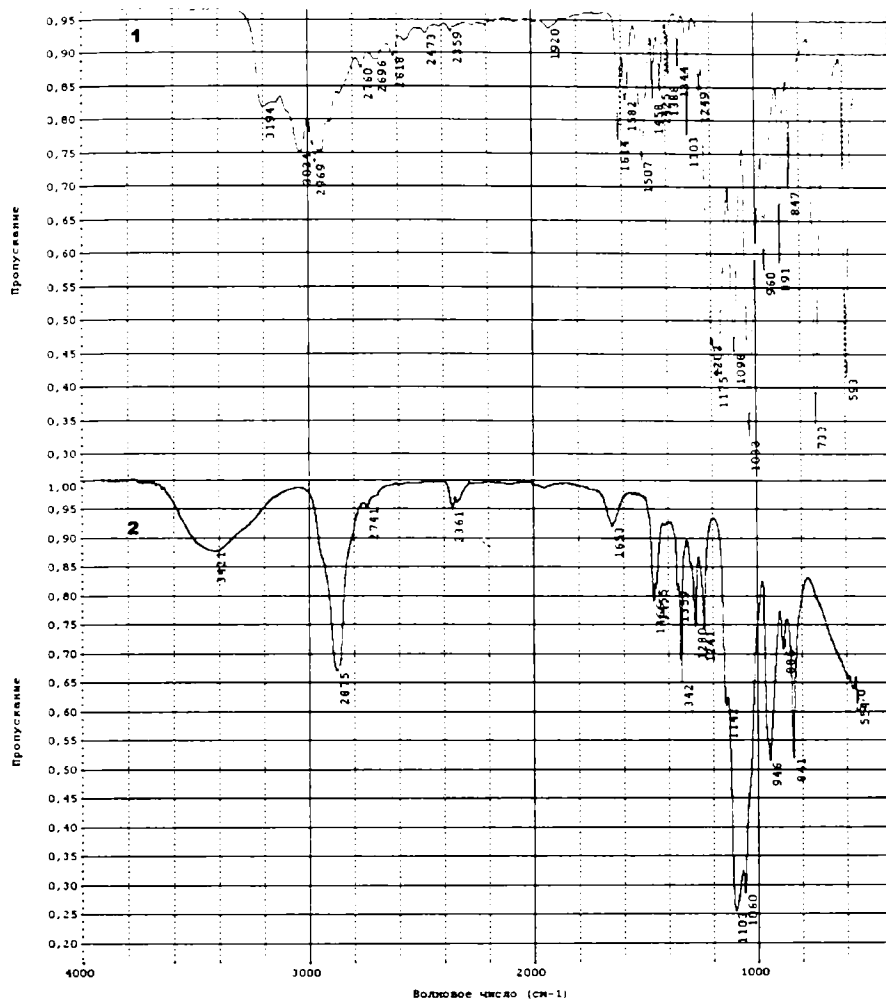


Рис. 3. ИК-спектр таурина и фитогеля 2. На рисунке 3 представлены: 1 – таурин, 2 – фитогель 2.

Таким образом, нами были предложены составы фитопрепаратов – фитогелей 1 и 2 на основе комплексных извлечений из лекарственного растительного сырья и предложены методики стандартизации – методами ТСХ, СФ и ИК. На хроматограмме обнаружены зоны, для которых значения  $R_f$  совпадают с таковыми для рутина.

Для количественного определения суммы флавоноидов в фитогелях 1 и 2 была изучена возможность использования метода спектрофотометрии. Содержание флавоноидов в пересчете на рутин в фитогеле 1 составило 0,040%, а в фитогеле 2 – 0,108%. ИК-спектроскопия подтвердила наличие таурина в фитогеле 2.

### Литература

1. Огай М.А. Фармакологические исследования и технология фитогелей для коррекции последствий сахарного диабета / М.А.Огай, Э.Ф.Степанова, Л.П.Ларионов, А.Ю.Петров // Журн. «Вестник Воронежского государственного университета». Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2009. - № 2. - С. 171-173.
2. Клышев Л.К. Флавоноиды растений (распространение, физико-химические свойства, методы исследования) / Л.К.Клышев, В.А.Бандюкова, Л.С.Алюкина. - Алма-Ата: Наука, 1978. - 220 с.

3. Беликов В.В. Реакции комплексообразования в анализе флавоноидов / В.В.Беликов, Т.В.Точкова // Всесоюз. симпоз. по фенольным соединениям (2; 1971; Алма-Ата). – Алма-Ата: Тез. Докл. ... 1973. – С. 168-172.
4. Беликов В.В. Методы анализа флавоноидных соединений / В.В.Беликов, М.С.Шрайбер // Фармация. - 1970. - Т. 19, № 1. - С. 66-72.

**А.И. Орехова, Р.П. Лелекова**

**ИССЛЕДОВАНИЕ РАВНОВЕСИЯ СИСТЕМЫ  $MgCl_{2\text{кр}} - KCl_{\text{кр}} - NaCl_{\text{кр}} - CaCl_{2\text{кр}} - HCl_{\text{г}} - H_2O_{\text{г}}$**

Уральская государственная медицинская академия

В настоящее время основным видом хлормagneйного сырья для получения магния у нас в стране остается искусственный карналлит, получаемый перекристаллизацией природного карналлита Верхнекамского месторождения.

До сих пор не используются такие ценные виды хлормagneйного сырья, как природный бишофит Волгоградского месторождения, отбросные хлормagneйные щелоки – отходы производства калийных солей, рапа соляных озер и подземных источников и др. [1]. Отсутствие промышленной технологии обезвоживания бишофита значительно сужает сырьевые ресурсы магниевого производства, а для разработки последней необходимо изучение равновесия гетерогенной системы  $MgCl_{2\text{кр}} - KCl_{\text{кр}} - NaCl_{\text{кр}} - CaCl_{2\text{кр}} - HCl_{\text{г}} - H_2O_{\text{г}}$ , что позволит рекомендовать условия обезвоживания хлормagneйного сырья.

Для исследования использованы следующие виды хлормagneйного сырья: щелок, получаемый подземным растворением бишофита Волгоградского месторождения, хлормagneйный щелок – отход производства калийных солей, рапа озера Кучук после переработки последней. Химический состав исследуемых хлормagneйных щелоков и фазовый состав твердых продуктов, кристаллизующихся из последних [2], приведены в таблице.

Таблица

Составы хлормagneйного сырья

| Вид состава                        | Соединения                         | Щелок Волгоградского бишофита | Рапа оз. Кучук | Хлормagneйный щелок |
|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|----------------|---------------------|
| Химический состав щелоков, масс. % | $MgCl_2$                           | 29,78                         | 45,29          | 21,98               |
|                                    | $NaCl$                             | 0,76                          | 2,54           | 2,87                |
|                                    | $KCl$                              | 0,39                          | 0,48           | 3,45                |
|                                    | $CaCl_2$                           | 0,08                          | 0,27           | 3,1                 |
|                                    | $CaSO_4$                           | 0,21                          | 0,27           | 0,04                |
|                                    | $HCO_3^-$                          | 0,023                         | -              | -                   |
|                                    | $B$                                | 0,002                         | -              | -                   |
|                                    | $LiCl$                             | 0,00015                       | -              | -                   |
|                                    | $Fe^{2+}$                          | следи                         | -              | -                   |
|                                    | $H_2O$                             | по остатку                    | 51,15          | 68,56               |
| Фазовый состав, мол. %             | $MgCl_2 \cdot 6H_2O$               | 94,55                         | 79,98          | 33,32               |
|                                    | $KCl \cdot MgCl_2 \cdot 6H_2O$     | 0,73                          | 1,34           | 17,84               |
|                                    | $0,5NaCl \cdot MgCl_2 \cdot 6H_2O$ | 4,323                         | 18,18          | 37,91               |
|                                    | $CaCl_2 \cdot 6H_2O$               | 0,019                         | 0,50           | 10,28               |
|                                    | $CaSO_4$                           | 0,395                         | -              | 0,12                |

Для определения равновесного состава газовой фазы над твердыми продуктами обезвоживания исследуемого сырья изучали гетерогенное равновесие системы  $MgCl_{2\text{кр}} - KCl_{\text{кр}} - NaCl_{\text{кр}} - CaCl_{2\text{кр}} - HCl_{\text{г}} - H_2O_{\text{г}}$  при 160-600°C.

Кривые зависимости равновесных значений парциальных давлений  $HCl$  в газовой фазе от температуры представлены на рисунке. Последние позволяют проследить процесс обезвоживания хлормagneйного сырья, начиная с