

Применение жидкостного хроматографа "Милихром А-02" для анализа лекарственных средств и БАДов растительного происхождения

И.Н.Азарова

ЗАО Институт хроматографии "ЭкоНова", г. Новосибирск, azarova@econova.nsk.su

В этой работе приведены примеры применения жидкостного хроматографа "Милихром А-02" для определения ряда веществ в экстрактах и настойках растений, используемых в медицине и входящих в состав биологически активных добавок (БАД) к пище. Исследования включали в себя два этапа:

1. Получение хроматографических и спектральных параметров для стандартных образцов анализируемых веществ по методике № ФР.1.31.2003.00951 и включение их в Базу данных "БД-2003".
2. Определение интересующих веществ в образцах экстрактов и настоек по методике № ФР.1.31.2003.00950 с идентификацией аналитов по Базе данных. В тех случаях, когда отделение пика аналита от мешающих компонентов образца было недостаточно хорошим, проводили повторный анализ с изменением параметров градиентного элюирования, не меняя при этом состав элюентов **А** и **Б**. Идентификацию аналита при этом проводили только по спектральным отношениям.

Такой "унифицированный" вариант анализа методом ВЭЖХ позволил предельно сократить продолжительность аналитической процедуры, а также предельно минимизировать стоимость одного анализа.

Экспериментальная часть

Все нижеприведенные анализы выполнялись на серийном хроматографе "Милихром А-02" (ЗАО "ЭкоНова", г. Новосибирск) в условиях согласно методикам № ФР.1.31.2003.00950 и № ФР.1.31.2003.00951:

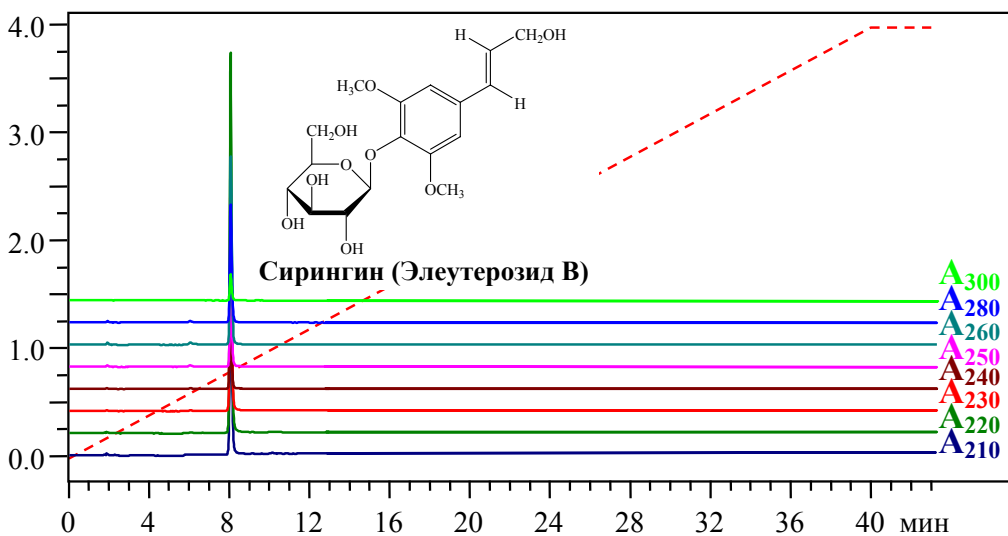
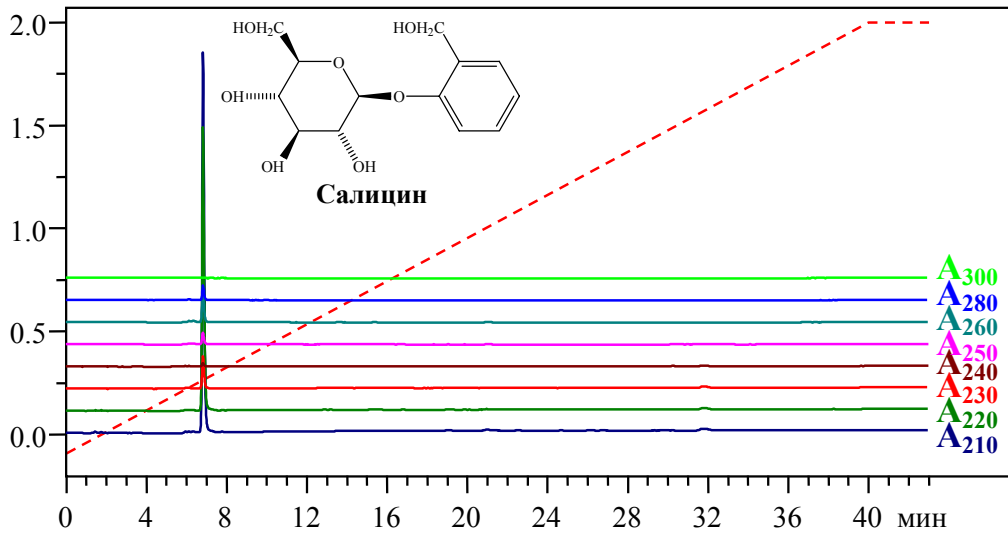
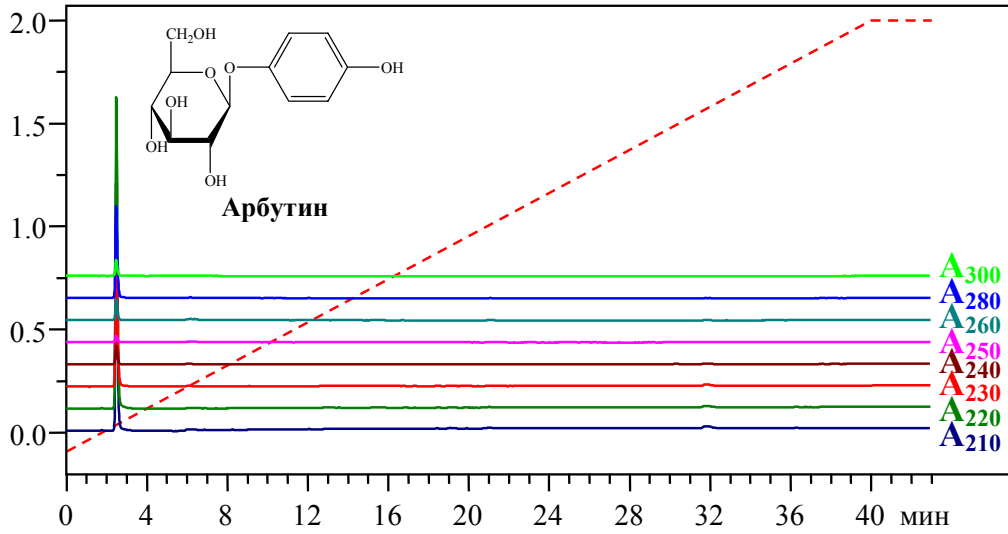
- колонка Ø2x75 мм с ProntoSIL-120-5 C18 AQ;
- элюенты: **А**- [4 М LiClO₄-0.1 М HClO₄]:H₂O (5:95), **Б**- MeCN;
- градиент: от 5% до 100% **Б** за 40 мин; 100% **Б** 3 мин; $F=100$ мкл/мин; $t=40^{\circ}\text{C}$;
- детектор: 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 и 300 нм; $\tau=0.18$ с;
- объем пробы: 4 мкл.

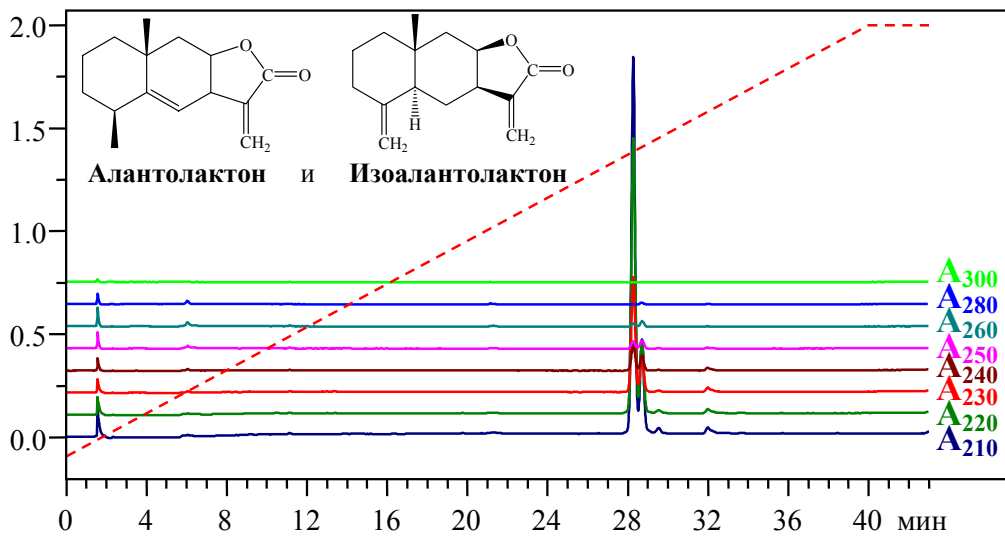
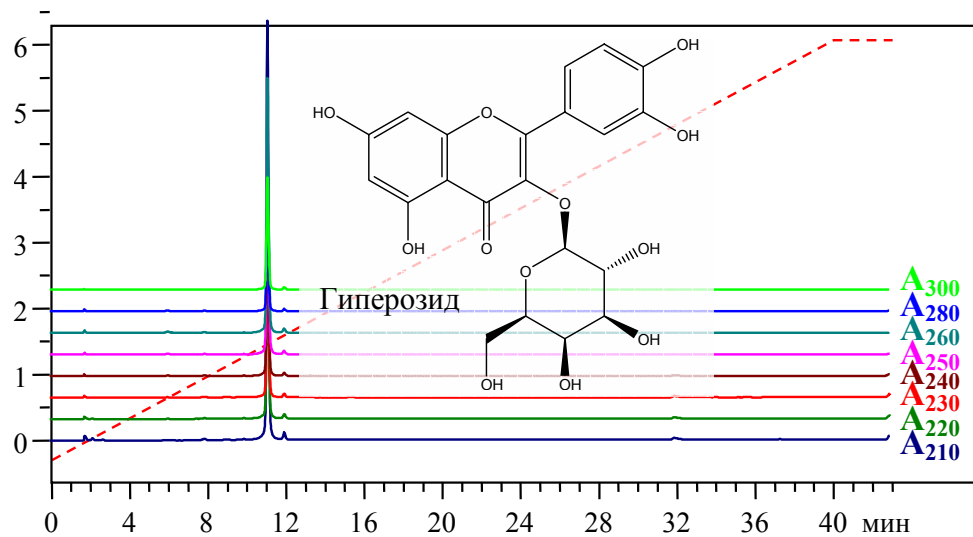
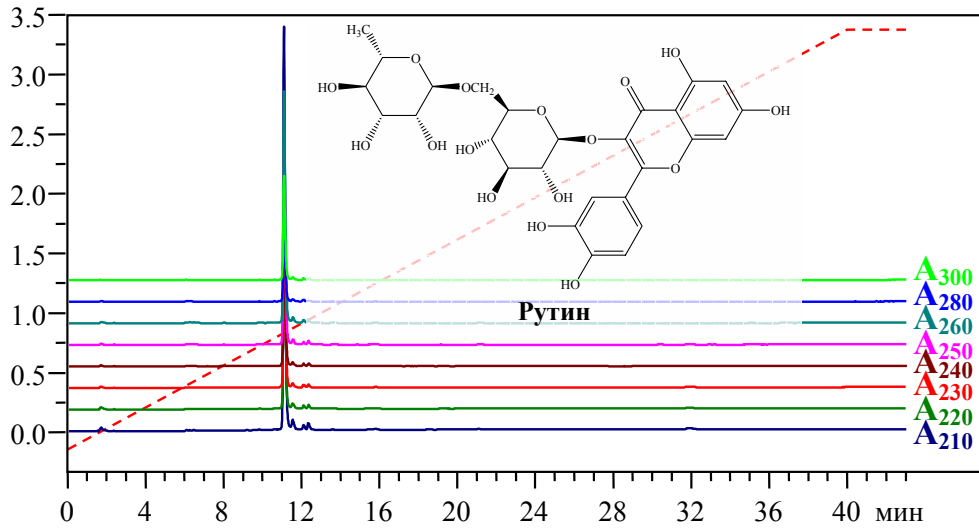
Идентификацию веществ и определение их содержания в анализируемом растворе проводили по Базе данных "БД-2003" с помощью программы "МультиХром СПЕКТР" v.2.4 (ЗАО "Амперсенд", г. Москва).

Хроматографические и спектральные характеристики веществ из Базы данных

Вещество	V _R , мкл	S ₂₁₀ , о.е.*мкл (1 мг/мл)	Спектральные отношения S _λ /S ₂₁₀						
			S ₂₂₀	S ₂₃₀	S ₂₄₀	S ₂₅₀	S ₂₆₀	S ₂₈₀	S ₃₀₀
Арбутин	253	73.55	1.25	0.66	0.07	0.03	0.08	0.37	0.07
Салицин	689	106.88	0.75	0.09	0.01	0.03	0.08	0.04	0.00
Сиригин	806	238.08	1.47	0.85	0.31	0.49	0.73	0.45	0.10
Рутин	1106	206.56	0.58	0.42	0.38	0.53	0.58	0.22	0.26
Гиперозид	1115	344.84	0.58	0.43	0.39	0.56	0.60	0.24	0.27
Алантолактон + Изоалантолактон	2826	147.69	0.73	0.30	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00
	2870		0.74	0.36	0.14	0.07	0.03	0.00	0.00

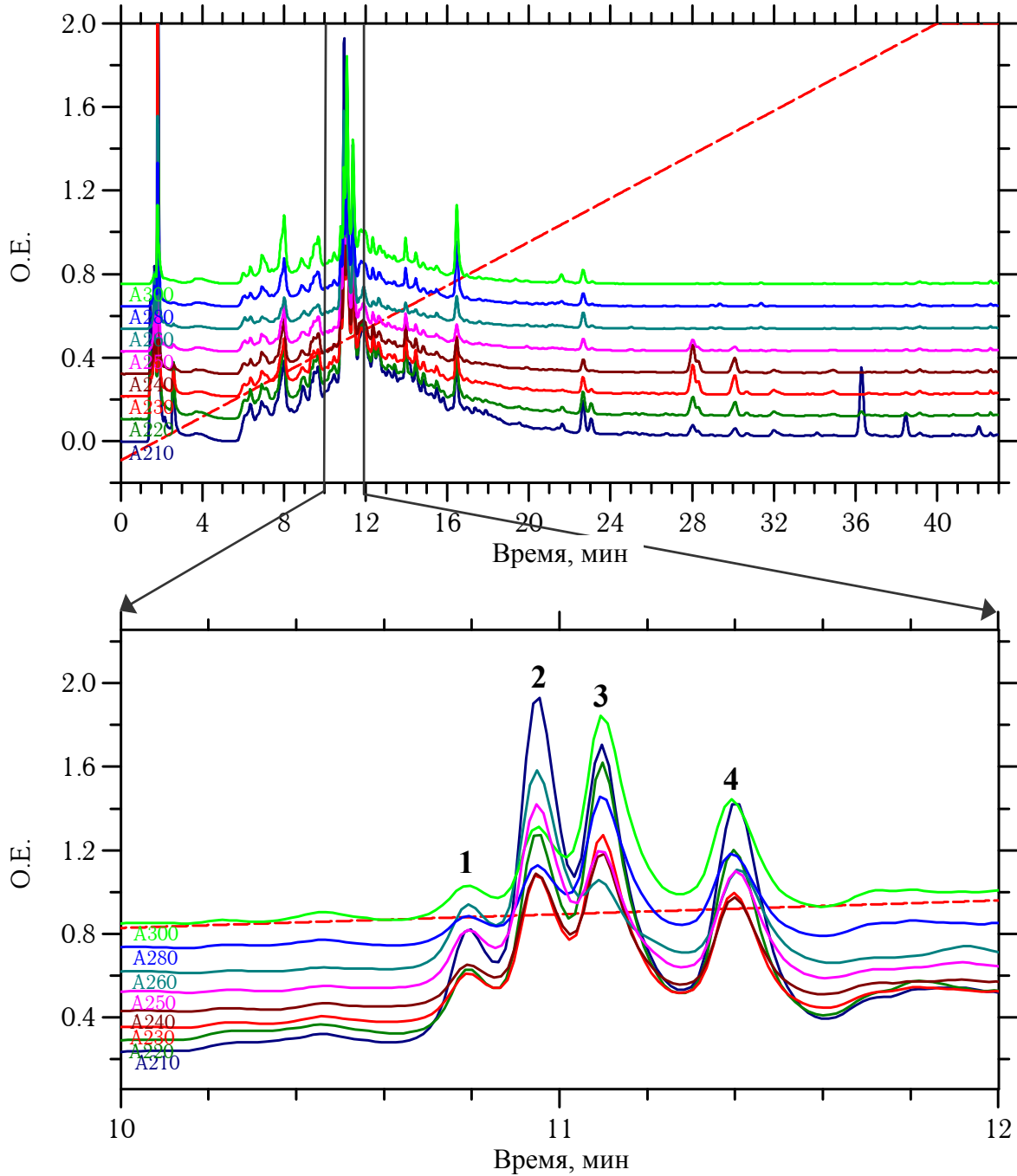
Хроматограммы растворов стандартных образцов





Настойка пустырника

Образец препарата: 200 г измельченной травы в 70%-ном этаноле (1000 мл). Перед анализом настойку разбавили водой 1:1.

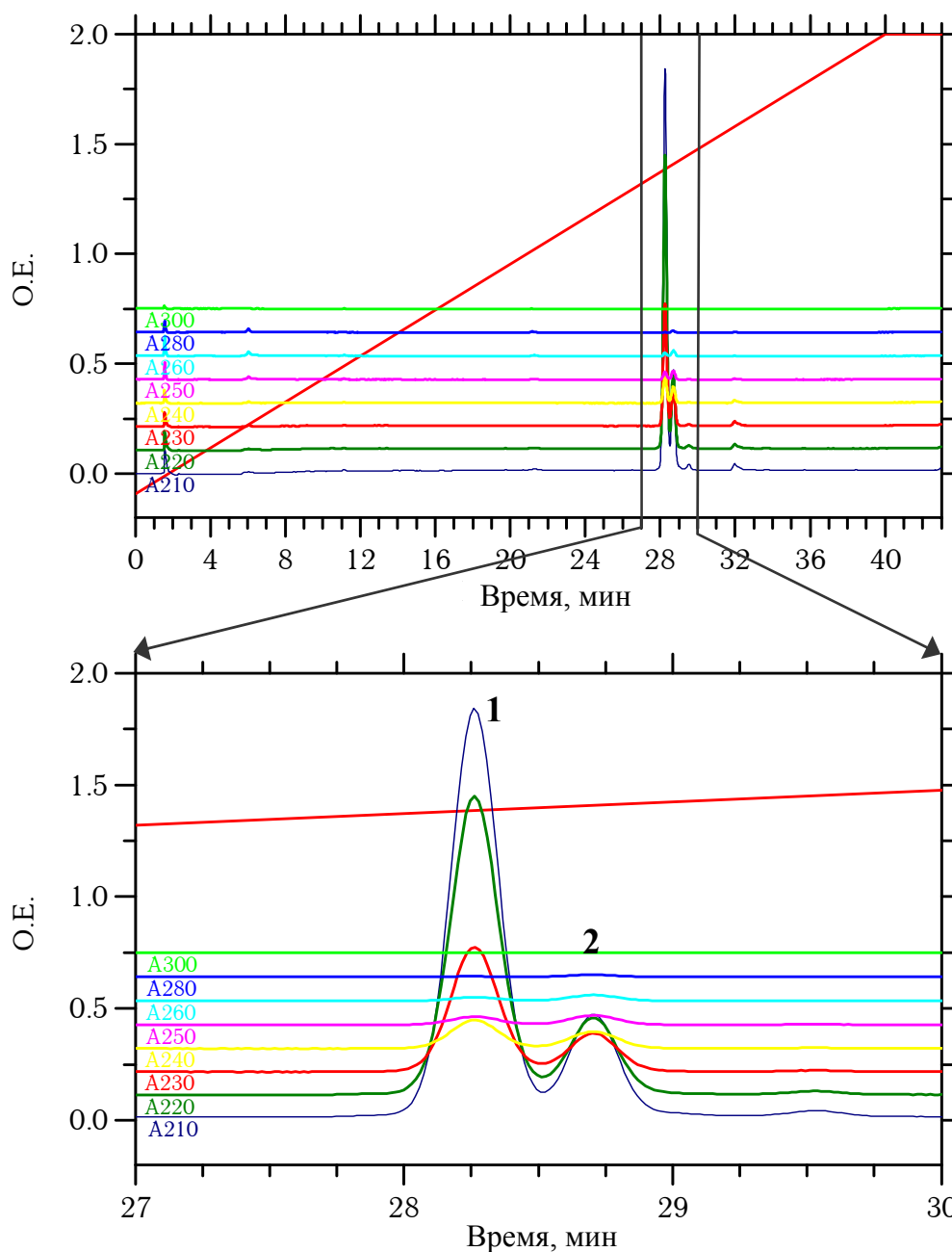


Пик №	Вещество	V _R , мкл	Спектральные отношения S _i /S ₂₁₀						
			S ₂₂₀	S ₂₃₀	S ₂₄₀	S ₂₅₀	S ₂₆₀	S ₂₈₀	S ₃₀₀
1	Нет в БД	1078	0.62	0.46	0.38	0.45	0.47	0.26	0.30
2	Рутин	1094	0.60	0.44	0.38	0.51	0.55	0.24	0.27
БД	Рутин	1106	0.58	0.42	0.38	0.53	0.58	0.22	0.26
3	Нет в БД	1108	0.89	0.62	0.50	0.44	0.29	0.47	0.63
4	Нет в БД	1138	0.75	0.53	0.44	0.45	0.38	0.35	0.46

Содержание рутина в пробе 0.17±0.02 мг/мл.

Экстракт корня девясила

Подготовка образца: около 1 г измельченного корня поместили в пакет из фильтровальной бумаги и экстрагировали ацетоном в аппарате Сокслета вместимостью 200 мл в течение 40 мин (5-6 сливов). Ацетоновое извлечение упарили до сухого остатка, перенесли в мерную колбу на 100 мл метанолом и довели объем до метки метанолом.

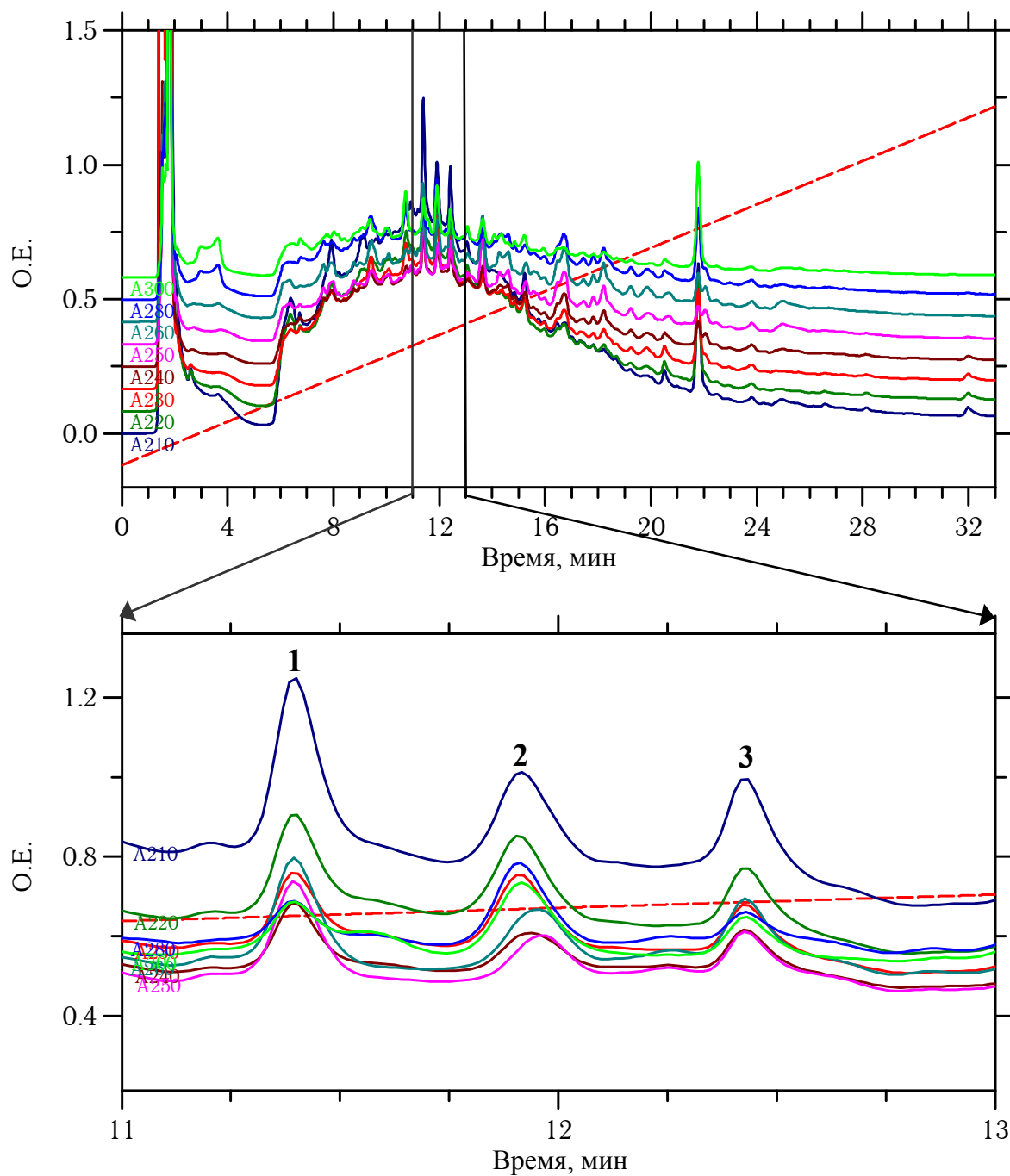


Пик №	Вещество	V_R , мкл	Спектральные отношения S_i/S_{210}						
			S_{220}	S_{230}	S_{240}	S_{250}	S_{260}	S_{280}	S_{300}
1	Алантолактон +	2824	0.73	0.30	0.06	0.01	0.00	0.01	0.01
2	Изоалантолактон	2871	0.73	0.35	0.12	0.05	0.02	0.02	0.04
БД	Алантолактон +	2826	0.73	0.30	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00
БД	Изоалантолактон	2870	0.74	0.36	0.14	0.07	0.03	0.00	0.00

Концентрация алантолактона и изоалантолактона в экстракте 0.43 ± 0.04 мг/мл

Экстракт хмеля

Подготовка образца: 0.9949 г сухого экстракта хмеля растворили в 50 мл 50% этанола.



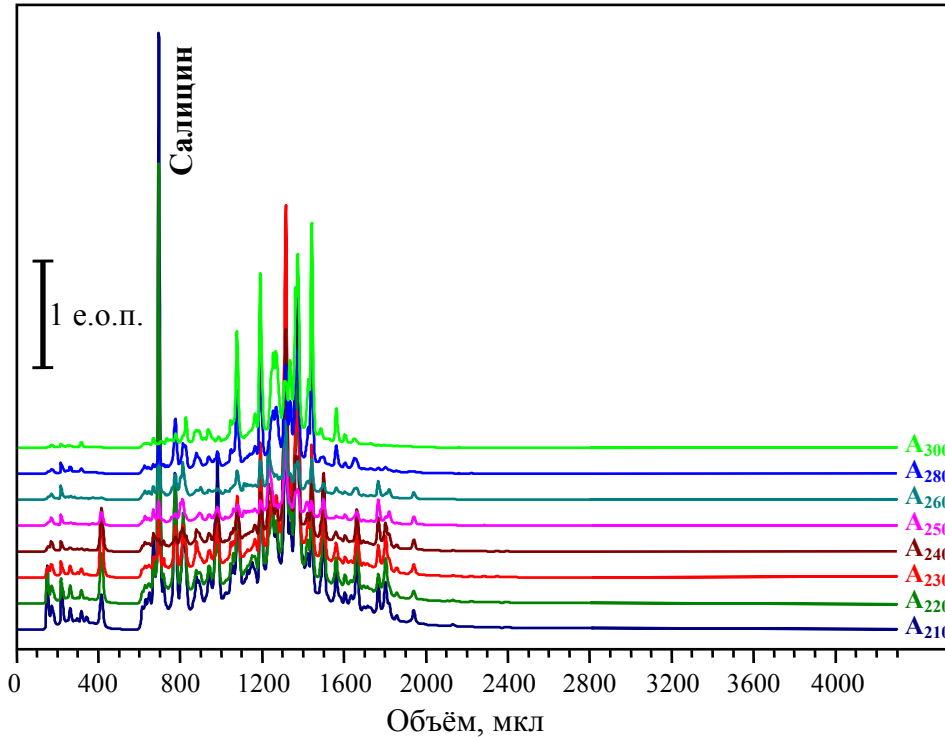
Пик №	Вещество	V _R , мкл	Спектральные отношения S _i /S ₂₁₀						
			S ₂₂₀	S ₂₃₀	S ₂₄₀	S ₂₅₀	S ₂₆₀	S ₂₈₀	S ₃₀₀
1	Гиперозид	1139	0.55	0.39	0.37	0.57	0.63	0.21	0.24
БД	Гиперозид	1115	0.58	0.43	0.39	0.56	0.60	0.24	0.27
2	Нет в БД	1190	0.87	0.76	0.41	0.45	0.63	0.88	0.80
3	Нет в БД	1241	0.64	0.49	0.38	0.35	0.52	0.25	0.39

Концентрация гиперозида в образце препарата составила 0.1%.

БАД "Популин" (ООО "Биолит", г. Томск)

Состав: экстракты коры осины, травы солянки холмовой, концентрат минеральной воды оз. Шира.

Подготовка образца: 0.8 г образца помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли 40 мл воды, перемешивали, довели объем раствора до метки водой. Экстракт фильтровали через мембранный фильтр с порами диаметром 0.22 мкм.



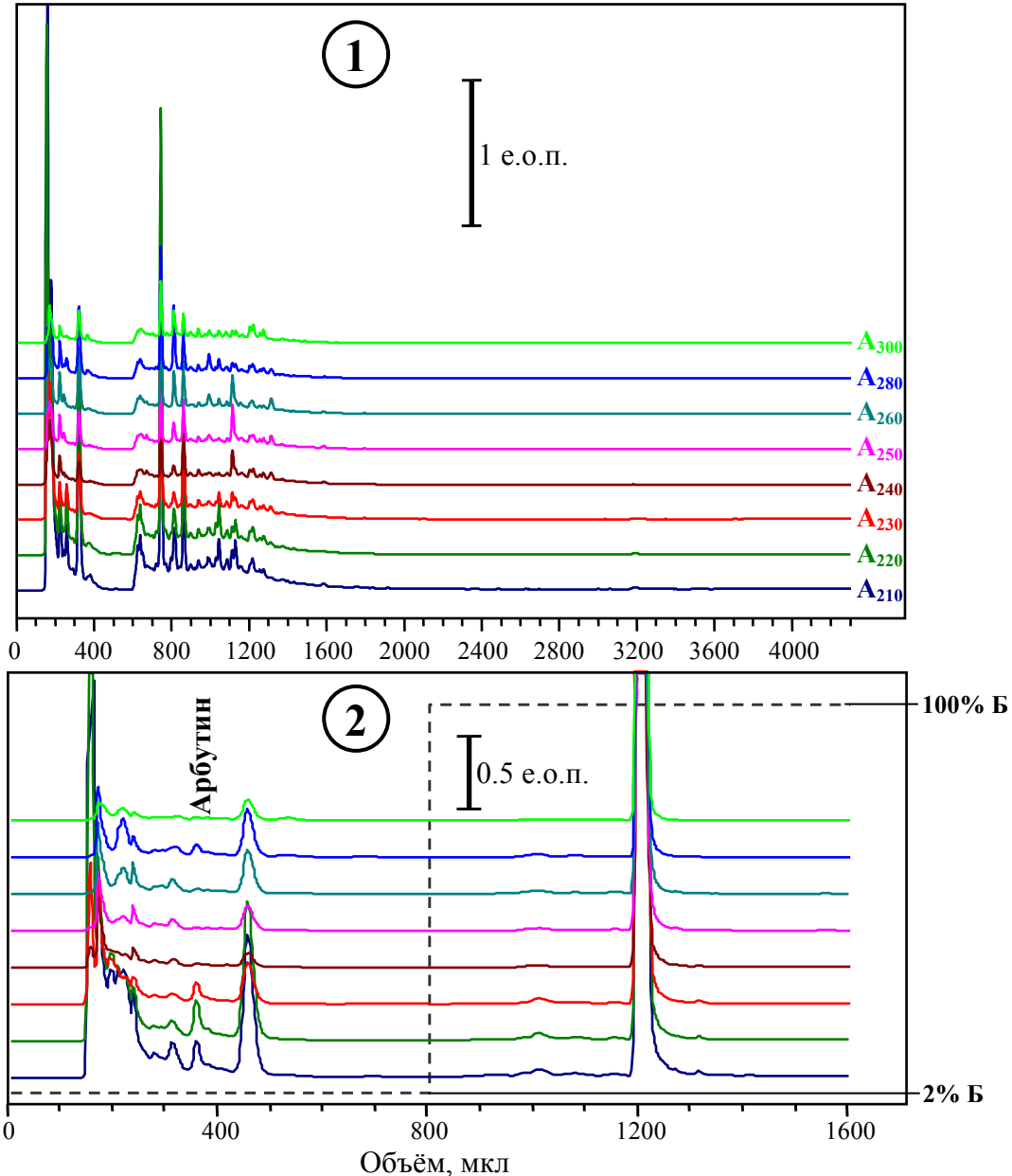
Вещество	V _R , мкл	Спектральные отношения S _i /S ₂₁₀						
		S ₂₂₀	S ₂₃₀	S ₂₄₀	S ₂₅₀	S ₂₆₀	S ₂₈₀	S ₃₀₀
Салицин	694	0.73	0.09	0.02	0.04	0.09	0.05	0.01
Салицин (БД)	689	0.75	0.09	0.01	0.03	0.08	0.04	0.00

Концентрация салицина в анализируемом растворе 0.50±0.05 мг/мл.

БАД "Витасел" (ООО "Биолит", г. Томск)

Состав: экстракты листьев подорожника, герани, корней лопуха, родиолы розовой, бадана; глюкоза.

Подготовка образца: 2.5 г гранулята помещали в мерную колбу (25 мл), добавляли 15 мл воды, перемешивали 40 мин, доводили объем раствора до метки водой. Экстракт перед анализом центрифугировали (5 мин, 10000 г).



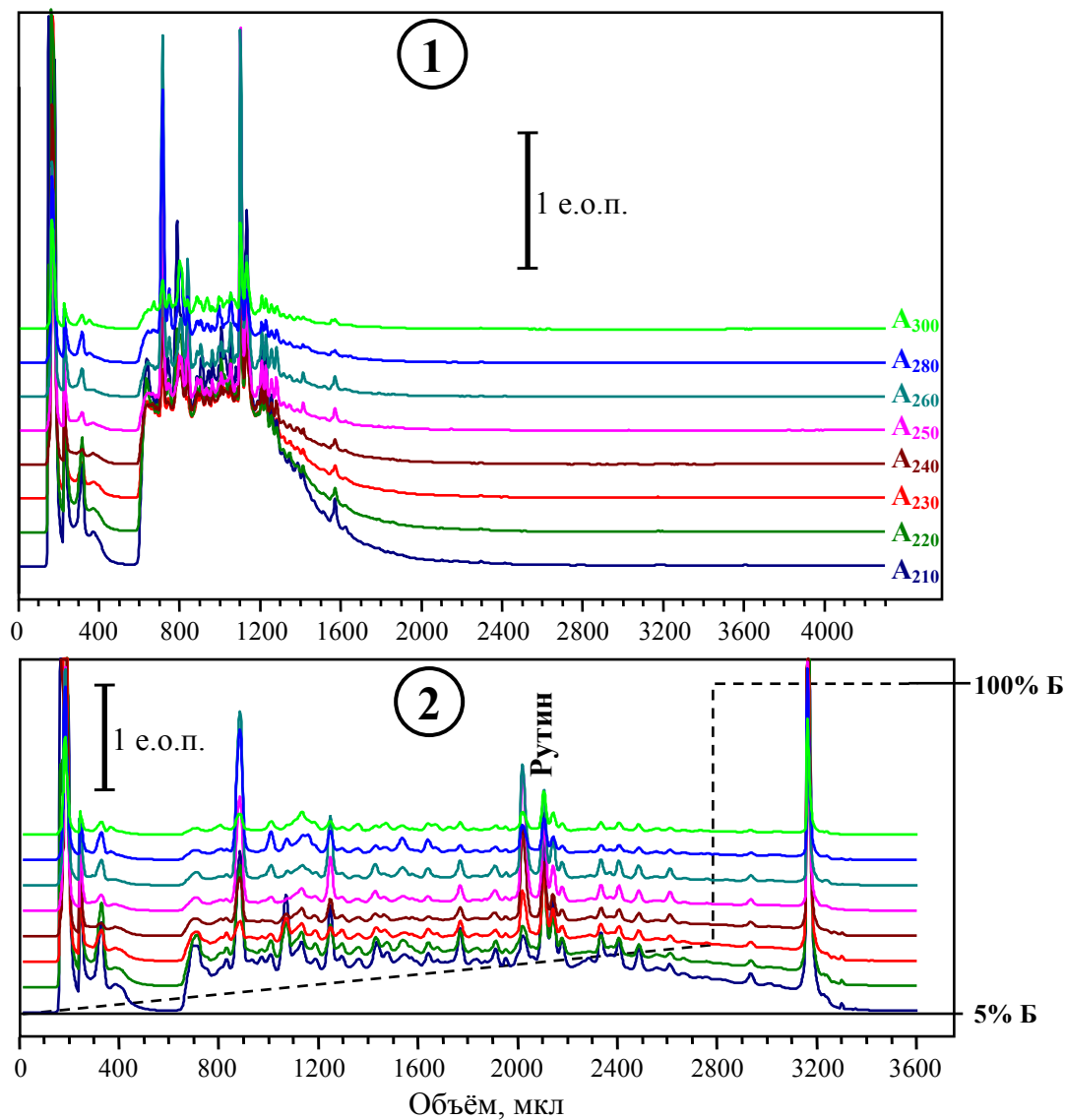
Хромато- грамма	Вещество	V_R , мкл	Спектральные отношения S_i/S_{210}						
			S_{220}	S_{230}	S_{240}	S_{250}	S_{260}	S_{280}	S_{300}
1	Арбутин	252	<i>Пик не гомогенный</i>						
2	Арбутин	355	1.21	0.64	0.07	0.04	0.10	0.36	0.05
БД	Арбутин	253	1.25	0.66	0.07	0.03	0.08	0.37	0.07

Концентрация арбутина в анализируемом растворе 0.040 ± 0.004 мг/мл.

БАД "Венорм" (ООО "Биолит", г. Томск)

Состав: экстракты листьев березы, малины, травы манжетки, курительского чая; сок плодов аронии, порошок ламинарии, рутин, сорбит.

Подготовка образца: 2.5 г гранулята помещали в мерную колбу (25 мл), добавляли 15 мл 50% метанола, перемешивали 40 мин, доводили объем раствора до метки 50% метанолом. Экстракт перед анализом центрифугировали (5 мин, 10000 г).



Хромато-грамма	Вещество	V_{R_s} , мкл	Спектральные отношения S_i/S_{210}						
			S_{220}	S_{230}	S_{240}	S_{250}	S_{260}	S_{280}	S_{300}
1	Рутин	1131	Пик не гомогенный						
2	Рутин	2039	0.57	0.42	0.38	0.53	0.58	0.23	0.26
БД	Рутин	1106	0.58	0.42	0.38	0.53	0.58	0.22	0.26

Концентрация рутина в анализируемом растворе 0.14 ± 0.01 мг/мл.