

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Селезнев Н.Г., Добина С.В., 2013
УДК 615.322.074:543.544

**ХРОМАТОСПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АРБУТИНА В ЛИСТЬЯХ БРУСНИКИ**

Н.Г. СЕЛЕЗЕНЕВ, С.В. ДОБИНА

**CHROMATOGRAPHY SPECTROMETRIC METHOD OF ARBUTIN
DETECTION IN COWBERRY LEAVES**

N.G. SELEZENEV, S.V. DOBINA

ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России

Разработан новый хроматоспектрофотометрический метод определения арбутина в листьях брусники. Метод основан на очистке аналитической пробы от мешающих анализу арбутина веществ с помощью колоночной хроматографии на алюминия оксиде. В спиртовом элюате при длине волны 282 нм на спектрофотометре измеряется оптическая плотность и проводится расчет содержания арбутина в листьях с использованием удельного показателя поглощения. Идентичность арбутина в извлечении из листьев брусники подтверждена оценкой его спектра, а также бумажной хроматографией в сравнении с арбутином-стандартом. Ошибка разработанного метода составляет $\pm 3, 24\%$.

Ключевые слова: листья брусники, арбутин, количественное определение.

A new chromatography spectrometric method of arbutin detection in cowberry leaves was developed. The method is based on purification of analytical specimen from substances impeding the analysis by aluminum oxide column chromatography. In alcoholic eluate absorbancy is measured on the spectrometer with 282 nm wave and arbutin quantity in cowberry leaves is estimated by specific absorption coefficient. The identity of arbutin from the extraction of cowberry leaves is confirmed by its estimated spectrum as well as paper chromatography in comparison with the control specimen. The error of the given method is $\pm 3, 24\%$.

Key words: cowberry leaves, arbutin, quantity detection.

В связи с продолжением работы над Государственной Фармакопеей России требуются современные методики для анализа и контроля качества лекарственного сырья и изготовленных из него лекарственных форм [1].

Листья брусники содержат комплекс биологически активных веществ, таких как фенолгликозид арбутин, дубильные вещества, флавоноиды, органические кислоты и другие вещества [2], что затрудняет анализ основного вещества – арбутина. Для освобождения извлечения от мешающих анализу веществ используют различные способы очистки, в том числе кипячение, обработкой солями тяжелых металлов, замена растворителя, использование сорбентов и др.

Существующий фармакопейный метод определения арбутина в листьях брусники достаточно длительный, энергоемкий, не достаточно экологичен, включает экстрагирование измельченного сырья водой при кипячении в течение 30 минут. Затем проводится кипячение пробы со свинца ацетатом основным. После осаждения балластных веществ необходимо дополнительное кипячение в течение 1,5 часа с раствором концентрированной серной кислоты. После фильтрации пробу обрабатывают цинковой пылью, нейтрализуют натрия гидрокарбонатом и затем проводят титрование раствором йода 0,1 моль/л. Индикатор – крахмал.

В связи с вышеуказанными обстоятельствами возникает необходимость в более современном методе определения арбутина в листьях брусники.

Ранее нами для определения арбутина в урологическом сборе и извле-

чениях из него предложен хромато-спектрофотометрический метод [3, 4].

Цель исследования – изучить возможность использования метода хроматографии в сочетании со спектрофотометрией для определения арбутина в листьях брусники.

Материалы и методы

В работе использованы листья брусники производства ОАО «Красногорсклексредства», отвечающих требованиям ГФ XI издания. Для идентификации арбутина в извлечениях из листьев брусники использовали стандартный образец арбутина – производитель ООО «Фитопанацея». Идентификацию арбутина в извлечениях из листьев брусники проводили анализом УФ-спектров, а также методом хроматографии на бумаге марки «М». Система растворителей: н-бутанол – уксусная кислота – вода (4: 1: 5). Проявление хроматограммы проводилось последовательной обработкой 10% раствором аммиака, 3% раствора железа хлорного. В основе определения арбутина в листьях брусники применена методика определения арбутина в листьях зимолубки [5].

Методика. Около 0,5 г (точная навеска), проходящего через сито 2 мм, помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 20 мл 20% спирта этилового, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали при умеренном кипении на водяной бане в течение 15 минут. Извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы

сырья не попали на фильтр. Операцию проводили еще 2 раза. Извлечение доводили до метки 20 % спиртом этиловым (раствор А), 3 мл раствора А помещали в колонку с алюминия оксидом и элюировали 15 мл 20% спирта этилового. Элюат собирали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объем до метки 20% спиртом этиловым и перемешивали (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряли на регистрирующем спектрофотометре « Lamda 3,5 Perkin Elmer» при длине волны 282 нм в кювете с толщиной рабочего слоя 1 см. В качестве раствора сравнения использовали 20% спирт этиловый, пропущенный через колонку с алюминия оксидом. Содержание арбутина рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{D \times 100 \times 25 \times K \times 100}{E_{1\text{см}}^{1\%} \times m \times a \times (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность исследуемого раствора;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения арбутина, равный 72,23;

a – аликвота извлечения, мл;

m – навеска сырья, г;

K – коэффициент неполного элюирования, равный 1,14025;

W – влажность сырья.

Приготовление хроматографической колонки. Для приготовления хроматографической колонки брали 3,0 алюминия оксида нейтрального для хроматографии, помещали в стеклянную колонку диаметром 1,5 см, высотой 25 см и промывали 5 мл 20% спирта этилового.

Для расчета влажности листьев брусники использовали фармакопейный метод [6].

Результаты и их обсуждение

УФ-спектр, снятый нами из раствора А по методике количественного определения арбутина (рис. 1), показал спектральные характеристики, идентичные арбутину-стандартному образцу (рис. 2). УФ-спектр в областях длин волн от 200 до 350 нм характеризуется двумя выраженными максимумами поглощения при 221 нм и 282 нм и двумя минимумами поглощения при 214 нм и 257 нм. Наличие арбутина в водных извлечениях подтверждена методом хроматографии. На хроматограммах с извлечениями из листьев брусники обнаруживаются окрашенные зоны фиолетового цвета R_f , равными 0,75, соответствующие арбутину-стандартному образцу. Результаты количественного определения показывают, что содержание арбутина в листьях брусники составляет $12,40 \pm 0,3998\%$ (табл. 1). Ошибка единичного определения составляет 3,22%.

Содержание арбутина в различных образцах листьев брусники представлено в таблице 2 и находится в пределах от 12,04 до 12,92%.

Выводы

1. Определены характеристики УФ-спектра извлечения из листьев брусники и его соответствие арбутину-стандартному образцу. Бумажной хроматографией доказана идентичность арбутина в извлечении арбутину – стандартному образцу.
2. Хромато-спектрофотометрический метод определения арбутина может быть использован для определения арбутина в листьях брусники. Ошибка метода составляет 3,22%.

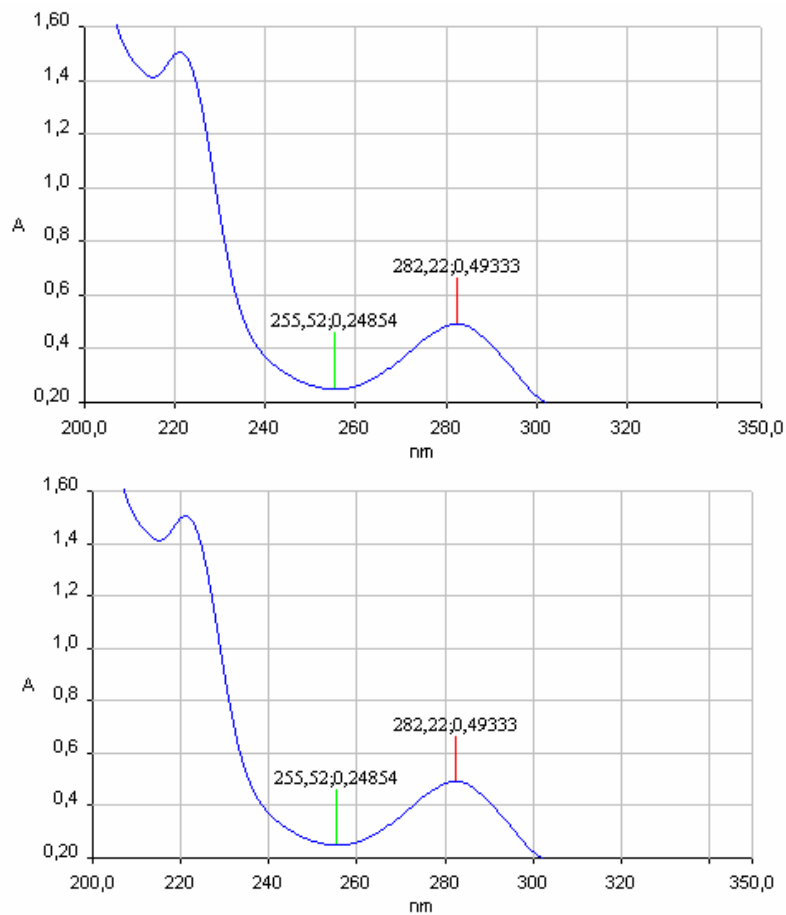


Рис. 1. УФ-спектр извлечения из листьев брусники

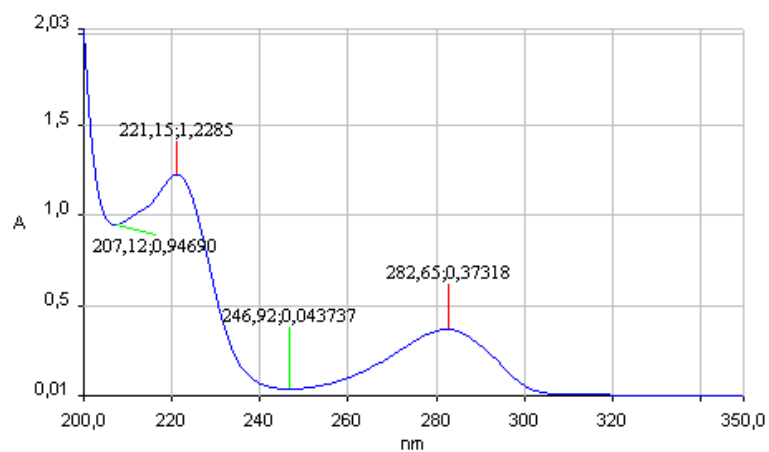


Рис. 2. УФ-спектр арбутина-стандартного образца (40мкг/мл, растворитель – вода)

Таблица 1

Метрологическая характеристика хроматоспектрофотометрического метода определения арбутина в листьях брусники

f	$x, \%$	S	S_x	Δx	$A, \%$
5	12,40	0,3216	0,1438	0,3998	3,22

Таблица 2

Содержание арбутина в образцах проб листьев брусники

Номер проб	Оптическая плотность исследуемого раствора	Содержание арбутина в %
1	0,4449	12,42
2	0,4630	12,92
3	0,4410	12,31
4	0,4315	12,04
5	0,4420	12,33

Литература

1. Самылина И.А. Методология исследований по разработке проектов общих фармакопейных статей для государственной фармакопеи России / И.А. Самылина, И.П. Рудакова // Фармация. – 2012. – №5. – С. 3-5.
2. Муравьева Д.А. Фармакогнозия с основами биохимии лекарственных растений: учебник / Д.А. Муравьева. – 2-е изд. – М., 1981. – 657 с.
3. Селезнев Г.Н. Определение арбутина в урологическом сборе / Г.Н. Селезнев, Д.М. Попов, Н.Г. Селезнев // Фармация. – 2011. – №4. – С. 18-20.
4. Селезнев Г.Н. Разработка методики определения арбутина в извлечении из сбора, содержащего листья толокнянки, траву череды, почки березовые / Г.Н. Селезнев, Д.М. Попов, Н.Г. Селезнев // Вопросы биологической мед. и фарм. химии. – 2012. – №9. – С. 18-21.
5. Мазепина Л.С. Количественное определение арбутина в листьях зимолюбки зонтичной / Л.С. Мазепина, М.С. Коротаева, Н.С. Фурса // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2007. – №2. – С. 260-263.
6. Государственная фармакопея СССР. – XI изд. – М.: Медицина, 1990. – Вып. 1, 2.

Селезнев Николай Георгиевич – к.фарм.н., доц., зав. кафедрой фармацевтической технологии ФДПО ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.
390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9.
Тел. (4912) 46-08-76.