

КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ МЕТОДАМИ ТСХ И ИК-ФУРЬЕ СПЕКТРОМЕТРИИ

Нарыкина А.И.

г. Новокуйбышевск, ГБОУ СОШ № 5 «ОЦ», 11 «А» класс

Научный руководитель: Богомолова М.А., г. Новокуйбышевск, учитель химии, ГБОУ СОШ № 5 «ОЦ»;

Научный руководитель: Редькин Н.А., к.х.н., доцент кафедры АЭХ СГАУ

Данная статья является реферативным изложением основной работы. Полный текст научной работы, приложения, иллюстрации и иные дополнительные материалы доступны на сайте II Международного конкурса научно-исследовательских и творческих работ учащихся «Старт в науке» по ссылке: <https://www.school-science.ru/2017/13/27509>.

В настоящее время чрезвычайно актуальным является контроль качества фармацевтических препаратов (как сырья, так и готовой продукции) и надежное выявление фальсификатов.

При входном контроле качества сырья требуется определить подлинность субстанции и вспомогательных веществ, используемые в производстве лекарственных препаратов.

В фальсифицированных лекарственных препаратах действующие вещества могут быть заменены на более дешевые и менее эффективные, а могут и вовсе отсутствовать. Такие препараты не обладают нужными свойствами и для их выявления требуются экспрессные и точные методы.

В криминалистической практике чаще необходимо анализировать лекарственные препараты неизвестного состава, для этого используются методы, не требующие стандартов, простые и быстрые в выполнении.

Во всех фармакопейных статьях РФ метод ИК спектроскопии рекомендуется для определения подлинности субстанций и готовых лекарственных форм. Однако при анализе многокомпонентных препаратов спектры компонентов могут накладываться и тем самым искажать суммарный спектр, что не позволяет с использованием исключительно ИК спектроскопии определить, какие компоненты входят в состав препарата. Необходимо провести предварительное разделение всех действующих компонентов этих лекарственных препаратов с помощью ТСХ, а лишь затем провести их идентификацию с использованием ИК-Фурье спектроскопии.

Целью данной работы являлась разработка общего подхода к идентификации

компонентов сложных лекарственных препаратов на примере пенталгинов с использованием сочетания методов тонкослойной хроматографии и ИК-Фурье спектроскопии.

Исследуемые соединения

Ненаркотические анальгетики и нестероидные противовоспалительные средства часто назначают для лечения болей различного происхождения слабой и средней интенсивности (головная боль, мышечная боль, в том числе при простудных заболеваниях, гриппе и других острых респираторных заболеваниях, зубная боль и т.д.), как жаропонижающие при лихорадочных состояниях, сопровождающих многие заболевания, чаще инфекционные. По уровню потребления они относятся к наиболее популярным лекарствам во всем мире. Это связано еще и с тем, что многие из них входят в списки безрецептурного отпуска, и, значит, легко доступны для населения.

Поскольку воспалительные процессы, в зависимости от локализации, могут сопровождаться спазмами мускулатуры, сильными болями, кашлем, насморком, отеками и другими нарушениями функций организма. Ненаркотические анальгетики и нестероидные противовоспалительные средства сочетают с другими компонентами (спазмолитики, наркотические анальгетики, отхаркивающие средства, витамины, кофеин, средства, улучшающие микроциркуляцию), которые могут оказывать взаимодополняющее действие или усиливать (потенцировать) эффекты друг друга.

Пенталгины – комбинированные препараты, оказывающие анальгезирующее, противовоспалительное, спазмолитическое, жаропонижающее действие. В состав пенталгинов, в зависимости от марки, могут входить такие лекарственные субстанции, как парацетамол, метамизол натрия, напроксен, дротаверин а также различные наполнители: кофеин, фенирамин, кодеин, фенобарбитал, магния стеарат, крахмал.

Методы анализа лекарственных препаратов

Для контроля качества серийно выпускаемых многокомпонентных лекарственных препаратов «Пенталгин» разработан ряд валидных методик. Данные методики инструментального анализа направлены на разделение и количественное определение действующих веществ. Используют метод хроматографии в тонких слоях сорбента (ТСХ).

Хроматографическое разделение проводят на пластинках Sorbfil 100×100: СТХ-1А, 5 – 15 мкм, 100 мкм, ПЭТФ (г. Краснодар) и Silica gel 60 F254 50 HPTLC plates 20×10 cm (Merck). На пластинку наносят растворенные в смеси ацетонитрила и этилового спирта многокомпонентный препарат, компоненты, входящие в него (свидетели) и искусственную смесь. Для обнаружения лекарственных веществ на хроматограммах применяют обработку окрашивающим реактивом (смесью растворов 0,1 н. йода и 0,1 н. хлористоводородной кислоты в соотношении 7:3), параллельно используют УФ детектирование при длине волны 254 нм.

Содержание действующих веществ в составе многокомпонентных лекарственных препаратов неодинаково и обусловлено их фармакологическими свойствами. Этот фактор важен при анализе таких препаратов методом ВЭЖХ. При большом различии содержаний компонентов и соответственно величинах пиков на хроматограмме наблюдается превышение диапазона линейности детектирования и возрастание отрицательного влияния шумов базовой линии и посторонних пиков. Поэтому некоторые исследователи предлагают раздельно определять компоненты препарата, содержащиеся в разных количествах.

Но многокомпонентные препараты можно анализировать и в одну стадию, получая более высокую точность результатов. Например, при анализе таблеток «Пенталгин ICN» (содержание парацетамола и анальгина в таблетке превышает содержание фосфата кодеина в 37.5 раз) методом градиентной ВЭЖХ средняя относительная погрешность определения фосфата кодеина не превышала 2.0%.

Для количественного определения действующих компонентов в медицинском препарате «Пенталгин» также применяют метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В качестве стандартов определяемых веществ использовали фармацевтические субстанции. Хроматографический анализ проводили на хроматографе «Waters Alliance 2695» с диод-

но-матричным детектором «Waters 2996», колонки заполняли обращено-фазовым сорбентом «Zorbax SB C8». В качестве подвижной фазы применяли ацетонитрил.

Метод ВЭЖХ был также применен для идентификации и определения количества фармацевтических препаратов, содержащих парацетамол и/или ацетилсалициловую кислоту, в смеси с антигистаминами (фенилэфрин, малеат фениламина, дифенилгидрамин) и другими добавками такими, как сульфат хинина, кофеин или фосфат кодеина. В предложенном методе разделяют компоненты на колонке Waters Acquity BEH C18 (2 мм×100 мм, 1.7 м) с градиентным элюированием, используя водный ацетат – аммонийный буфер с pH = 4.0 и метанол, как органический модификатор.

Экспериментальная часть

Перед разделением компонентов лекарственных препаратов методом ТСХ проводили экстракцию их из таблеток с помощью дистиллированной воды. Для этого 1 таблетку лекарственного препарата перетирали в агатовой ступке, добавляли к полученному порошку 3 мл воды, перемешивали и через 10 минут центрифугировали. Полученный центрифугат упаривали до 0,5 мл и использовали для нанесения на стартовую линию ТСХ пластин. Хроматографическое разделение проводили на пластинках для ТСХ ПТСХ-П-А-УФ (Sorbfil, Россия). В качестве подвижных фаз использовали органические растворители и их смеси. Использовали вариант восходящей тонкослойной хроматографией с предварительным насыщением хроматографической камеры парами подвижной фазы. Пробы анализируемых лекарственных соединений наносили с помощью капилляра в количестве 5-10 мкл. Проявляли хроматограммы в ультрафиолетовом свете при длинах волн 254 и 356 нм.

Зоны компонентов после их разделения вырезали с ТСХ пластин. Сорбент с этих зон переносили в стеклянные колонки и промывали 10 мл ацетона. Экстракты объединяли, выпаривали, и записывали ИК спектры полученных остатков.

Обсуждение результатов

Анализ многокомпонентных смесей является важной задачей в практической химии, решение которой во многом требует использования современного дорогого оборудования, доступного не всем аналитическим лабораториям.

Нами в качестве альтернативного метода предложен алгоритм идентификации компонентов сложных смесей с использо-

ванием сочетания методов ИК-Фурье спектрометрии и ТСХ.

Анализ включает следующие стадии:

1. Запись ИК спектра исходного образца
2. Подбор растворителя (экстрагента) с одновременной записью спектров как осадка, так и раствора.
3. Подбор оптимальных условий для разделения компонентов с использованием ТСХ.
4. Извлечение зон компонентов с ТСХ пластины и идентификация их по библиотекам ИК спектров.

ИК спектр образца позволяет сделать предположения о наличии различных классов соединений по групповым частотам. Этот спектр также широко используется на втором этапе анализа.

При подборе экстрагента необходимо использовать ряд растворителей, начиная с неполярных (гексан, гептан) и заканчивая сильнополярными (вода, спирты и др.), с целью максимального извлечения компонентов. Для осадков и экстрактов, упаренных досуха на воздухе или в вакууме, также необходимо записать ИК спектры и сравнивать их со спектром исходного компонента.

Данная процедура позволяет по интенсивности и количеству частот в спектрах выбрать наиболее подходящий растворитель (или несколько экстрагентов), а зачастую и идентифицировать некоторые компоненты пробы, например, полимерные составляющие.

Для метода ТСХ наиболее важной задачей является подбор оптимальной подвижной фазы, которая позволит наиболее полно разделить компоненты. Так как априорно предполагается, что о природе аналитов нет достоверных сведений, то подбор оптимальной хроматографической системы целесообразно проводить, начиная с неполярных и заканчивая полярными однокомпонентными подвижными фазами. Двух и трехкомпонентные фазы подбираются на основании количества зон компонентов, обнаруженных на хроматограмме и значений их R_f .

На заключительной стадии анализа зоны компонентов экстрагируют с ТСХ пластины для исключения мешающего воздействия сорбента и записывают их ИК спектры. При наличии соответствующих библиотек идентификация компонентов проводится с достаточной высокой надежностью.

Для достижения поставленной цели нами были изучены ИК спектры исходных лекарственных препаратов, из которых видно, что спектры «Пенталгина» и «Пенталгина ICN» практически совпадают со спектром «Панадола». Это объясняется тем, что именно парацетамол является основным действующим веществом этих образ-

цов, и его спектр перекрывает сигналы от других компонентов, таких как напроксен и дротаверин. Вместе с тем уширение спектра «Пенталгина ICN» в области 1100-1300 см^{-1} связано с влиянием анальгина, присутствующего в данном препарате в такой же концентрации, что и парацетамол.

Сложный характер спектров «Пенталгина» и «Пенталгина ICN» не позволяет только с использованием ИК-Фурье спектрометрии определить, какие компоненты в них входят. Именно поэтому нами было предложено провести предварительное разделение всех действующих компонентов этих лекарственных препаратов с помощью ТСХ, а затем провести их идентификацию с использованием ИК спектров.

Разделение компонентов лекарственных препаратов проводили с использованием пластин для ТСХ с силикагелем и подвижных фаз, состоящих из воды, органических растворителей и их смесей. При использовании в качестве подвижной фазы *n*-гексана, R_f всех компонентов оказался равен 0. В хлороформе, толуоле и бензоле не удалось разделить пенталгины на отдельные компоненты. Наилучшие результаты разделения компонентов смесей было достигнуто в таких подвижных фазах, как вода, ацетон, этанол.

Не все компоненты пенталгинов были зафиксированы на хроматограммах. Это может быть следствием как неполного извлечения препаратов водой, так и следствием их низкого содержания в препарате. Вместе с тем, из данных ТСХ видно, что, используя в качестве подвижной фазы ацетон, можно однозначно идентифицировать парацетамол ($R_f = 0,89$), содержащийся в препаратах Пенталгин ICN и Цитрамон П, а также метамезол натрия ($R_f = 0,65$) и ацетилсалициловую кислоту ($R_f = 0,66$).

Так как при идентификации компонентов сложных смесей опираться только на совпадение значений R_f нельзя, нами были получены ИК спектры всех зон, полученных при разделении «Пенталгинов» с использованием ацетона в качестве подвижной фазы.

Сравнение спектров экстракта хроматографической зоны с R_f равным 0,89 с библиотечными спектрами подтвердило, что этой зоне соответствует парацетамол.

Идентификация компонентов «Пенталгина ICN», которые на хроматограмме в ацетоне дают хроматографические зоны с $R_f = 0,65$ и 0,87, позволила определить в них метамезол натрия и парацетамол. Для «Пенталгина» $R_f = 0,69$ и 0,84 соответствуют метамезолу натрия и амидопирину. Для «Цитрамона П» $R_f = 0,66$ и 0,87 соответ-

ствуют ацетилсалициловой кислоте и парацетамолу.

Остальные компоненты лекарственных препаратов нами не были зафиксированы из-за их низкого содержания в таблетках.

Таким образом, можно утверждать, что идентификация компонентов лекарственных препаратов с использованием сочетания методов ТСХ и ИК-Фурье спектроскопии дает надежные результаты и может быть применима даже для таких компонентов, стандарты которых являются очень дорогими или практически недоступными.

Выводы

1. Исследованы возможности применения сочетания тонкослойной хро-

матографии – ИК-Фурье спектроскопии в качественном анализе лекарственных препаратов. Определены значения R_f компонентов препаратов Пенталгина, Пенталгина ICN, Цитрамона П, Анальгина, Баралгина, Налгезина, Ацетилсалициловой кислоты и Парацетамола.

2. Показано, что, используя лишь ИК спектры, невозможно идентифицировать компоненты, входящие в состав «Пенталгинов», так как сигналы панадола перекрывают линии поглощения других компонентов. Использование сочетания методов ТСХ и ИК-Фурье спектроскопии позволяет провести разделение смеси лекарственных препаратов и идентифицировать отдельные компоненты по их ИК спектрам.