

© Коллектив авторов, 2010

*В. Ю. Вачнадзе, Э. З. Джакели, И. А. Дадешидзе, Л. Г. Кинцурашвили*

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛКАЛОИДОВ В КОРНЯХ БАРВИНКА ТРАВЯНИСТОГО МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Институт фармакохимии И. Г. Кутателадзе, Тбилиси, Грузия

Разработана новая методика количественного анализа фармакологически активных алкалоидов: майдина, резерпинина, копсинина, таберсонина, норфлюорокурарина в корнях *Vinca herbacea* walds. et kit. и в сумме способом прямого спектрофотометрирования. Предлагаемая методика вполне воспроизводима и обеспечивает объективность полученных результатов по содержанию алкалоидов в корнях, в суммарном препарате и может быть использована для их стандартизации.

**Ключевые слова:** барвинок травянистый, алкалоиды, спектрофотометрия.

Барвинок травянистый является новым лекарственным сырьем для получения препарата, стимулирующего лейкопоз и представляющий собой сумму индольных алкалоидов, основными компонентами которой являются майдин, резерпинин, копсинин, таберсонин, норфлюорокурарин [1, 2].

В настоящее время на основании разработанных агроприемов возделывания этого растения в культуре в Восточной Грузии (с. Шираки) на опорном пункте лекарственных растений Института фармакохимии создана плантация барвинка травянистого площадью в 4 га [3].

Для ускорения оценки стандартизации субстанции препарата и лекарственного сырья предложен метод прямого спектрофотометрирования. От ранее разработанной методики [4] он отличается отсутствием необходимости проведения предварительного ТСХ-анализа, а также стадии элюирования веществ с сорбента [4].

### Экспериментальная часть

Извлечение суммы алкалоидов проводили по ранее предложенному способу [5]. Для установления рабочих концентраций в качестве стандарта использовали субстанцию препарата в виде основания, отвечающую требованиям нормативно-технической документации и стандартные образцы веществ-свидетелей (СОВС) майдина, резерпинина, копсинина, таберсонина, норфлюорокурарина также в виде оснований.

В УФ-спектрах веществ-свидетелей, снятых на спектрофотометре Beckman, Coulter DU-520 в метаноле, имеются максимумы поглощения для майдина 225, перегиб при 248 нм; резерпинина 228, 250, 296 нм; копсинина 246, 295 нм, таберсонина — 224, 300, 330 нм, норфлюорокурарина — 245, 302, 365 нм. Для проведения спектрофотометрического анализа были выбраны аналитические длины волн 225, 296, 246, 330, 365 нм соответственно.

Кривые УФ-спектров субстанции препарата, снятого в метаноле, показали, что выбранные аналитические длины волн не перекрываются и, следовательно, имеется возможность предложить методику определения содержания алкалоидов в сумме способом прямого спектрофотометрирования (рис. 1, 2) в пределах рабочих концентраций  $68, 1 \cdot 10^{-5} - 114,0 \cdot 10^{-5}$  г (майдин);  $1,2 \cdot 10^{-3} - 7,2 \cdot 10^{-3}$  г (резерпинин);  $3,10^{-3} - 10,1 - 3$  г (копсинин);  $11,2 \cdot 10^{-4} - 17,6 \cdot 10^{-4}$  г (норфлюорокурарин), в которых наблюдается линейная зависимость показателя оптической плотности от концентрации алкалоида. Раствором сравнения служил метанол.

Для проверки воспроизводимости метода был проведен анализ 1 образца субстанции в 10 независимых повторностях. Результаты анализа статистически обрабатывали с применением t-критерия Стьюдента (таблица).

Отсутствие систематической ошибки доказано опытами с добавками алкалоидов майдина, резерпинина, копсинина, норфлюорокурарина, таберсонина.

### Методика количественного анализа майдина, резерпинина, копсинина

Аналитическую пробу субстанции 0,1 г (с точностью до 0,01 г) растворяют в 10 мл хлороформа (раствор А) и экстрагируют трижды 10 % раствором уксусной кислоты (10, 10, 5,0 мл) в течение 30 мин по 10 мин каждое извлечение. Объединенные кислые извлечения промывают хлороформом (промывной хлороформ присоединяют к раствору "А"), подщелачивают 25 %  $\text{NH}_4\text{OH}$  до pH10 и алкалоиды исчерпывающе

### Метрологическая характеристика содержания алкалоидов в субстанции

<i>n</i>	<i>f</i>	<i>I</i> (%)	<i>S</i> <sup>2</sup>	<i>S</i>	<i>P</i> %	<i>t</i> ( <i>P, f</i> )	$\Delta X$	<i>E</i> %
10	9	62,7	1,8878	1,3739	95	2,26	3,1050	4,95

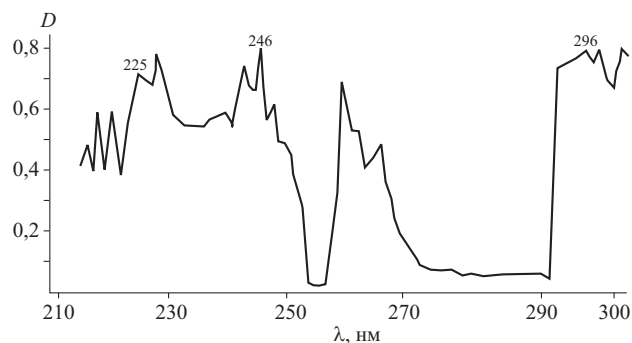


Рис. 1. УФ-спектр субстанции препарата для количественного определения майдина, резерпинина, копсинина.

экстрагируют этиловым эфиром (проверка полноты извлечения реактивом Драгендорфа). Эфирные извлечения объединяют, обезвоживают безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и фильтруют в круглодонную колбу объемом 50 мл. Сульфат промывают этиловым эфиром и фильтруют в ту же колбу. Органический растворитель отгоняют досуха, сухой остаток растворяют в 15 мл метанола, количественно переносят в мерную колбу объемом 25 мл, доводя содержание колбы метанолом до метки (раствор В).

В мерную колбу объемом 10 мл вносят 0,2 мл раствора “В” и доводят содержимое колбы до метки метанолом (раствор  $V_1$ ). Замеряют оптическую плотность при длине волны 225 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Определяют содержание майдина.

В мерную колбу объемом 10 мл вносят 1,0 мл раствора “В” и доводят содержимое колбы метанолом до метки (раствор  $V_2$ ). Замеряют оптическую плотность при длине волны 300 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Определяют содержание резерпинина.

В мерную колбу объемом 10 мл вносят 0,5 мл раствора “В” и доводят содержимое колбы до метки метанолом (раствор  $V_3$ ). Замеряют оптическую плотность при длине волны 246 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Определяют содержание копсинина.

Расчет содержания алкалоидов майдина, резерпинина, копсинина проводят по отдельности по формуле основного закона поглощения света:

$$X = \frac{DV_1V_4}{E_{1\text{см}}^{1\%}mV_2V_3} \cdot 100\%,$$

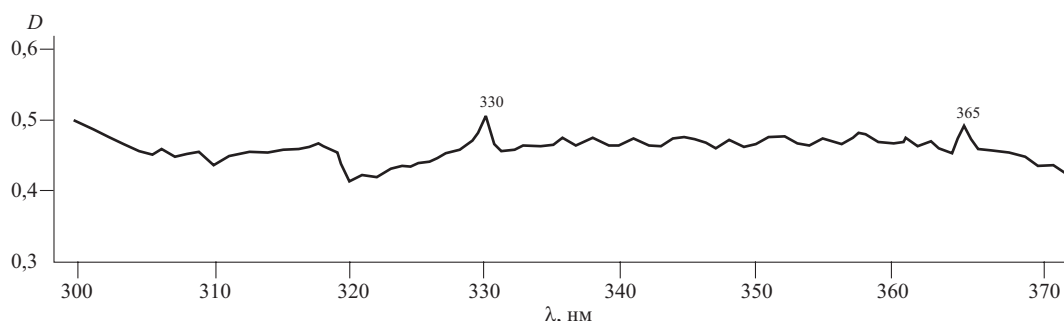


Рис. 2. УФ-спектр субстанции препарата для количественного определения таберсонина и норфлюорокурамина.

где  $D$  — оптические плотности анализируемых растворов  $V_1, V_2, V_3$ ;  $V_1$  — объем основного хлороформенного раствора субстанции “А”;  $V_2$  — объем раствора “В”, мл;  $V_3$  — количество мл раствора “В”, взятого для получения разбавленных растворов  $V_1, V_2, V_3$ ;  $V_4$  — объемы разбавленных растворов  $V_1, V_2, V_3$ , мл;  $m$  — вес аналитической пробы субстанции “Лейкобетин”, г;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$  — удельные показатели поглощения: для майдина — 800; для резерпинина — 122; для копсинина — 190.

### Методика количественного анализа таберсонина и норфлюорокурамина

Основной хлороформенный раствор субстанции и хлороформ после промывания кислотного извлечения количественно переносят во взвешенную круглодонную колбу и упаривают досуха под вакуумом. Колбу вновь взвешивают и определяют вес сухого остатка. Около 10 мл (с точностью до 0,01 мл) сухого остатка ( $m$ ) растворяют в 5 мл метанола, количественно переносят в мерную колбу объемом 10 мл и доводят до метки тем же растворителем (раствор С). Затем берут по 0,02; 0,03; 0,05 мл раствора “С” и количественно переносят в мерные колбы объемом 10 мл, доводя до метки тем же растворителем ( $C_1, C_2, C_3$ ).

Остаток в колбе ( $m_1$ ) растворяют в 15 мл метанола, количественно переносят в мерную колбу объемом 25 мл и доводят до метки тем же растворителем (раствор  $A_1$ ).

Замеряют оптическую плотность растворов  $C_1, C_2, C_3$  при длинах волн: 330 нм — для таберсонина, 365 нм — для норфлюорокурамина в кюветах с толщиной слоя 10 мм. За аналитический показатель оптической плотности принимают величины “D” от 0,2 до 0,8.

Содержание алкалоидов таберсонина и норфлюорокурамина рассчитывают по отдельности по формуле основного закона поглощения света:

$$X = \frac{Dm_1V_1V_4}{E_{1\text{см}}^{1\%}mV_2V_3} \cdot 100\%,$$

где  $D$  — оптические плотности растворов  $C_1; C_2; C_3$ ;  $V_1$  — объем раствора “ $A_1$ ”, мл;  $V_2$  — объем раствора “С”, мл;  $V_3$  — объем разбавленных растворов;  $V_4$  — количество мл раствора “С”, взятого для разбавления;

$m$  — вес сухого остатка, после отбора аналитической пробы, г;  $m_1$  — вес аналитической пробы, г.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. Ю. Вачнадзе, М. М. Муджири, Э. З. Джакели и др., *Хим.-фарм. журн.*, **18**(1), 67 – 71 (1984).
2. Э. З. Джакели, И. С. Сихарулидзе, М. М. Моисцрапишвили, М. Д. Гедеванишвили, *Материалы международного конгресса фармацевтов*, Тбилиси, Грузия (2002), с. 24.
3. В. Ю. Вачнадзе, Э. З. Джакели, М. М. Муджири и др., *Ресурсоведческое фармакогностическое изучение лекарственной флоры СССР*, Научн. тр., Т. XXV, Москва (1987), С. 126 – 131.
4. Э. З. Джакели, В. Ю. Вачнадзе, *Georgian Medical News*, № 10, 73 – 76 (2002).
5. К. С. Муджири, М. Д. Гедеванишвили, В. Ю. Вачнадзе и др., А. с. СССР № 879849 (1981).

Поступила 06.03.08

## QUANTITATIVE SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF ALKALOIDS IN ROOTS OF *VINCA HERBACEA*

V. Yu. Vachnadze, E. Z. Dzhakeli, I. A. Dadashidze, and L. G. Kintsurashvili

Kutateladze Institute of Pharmaceutical Chemistry, Academy of Sciences of Georgia, Tbilisi, Republic of Georgia

A new spectrophotometric method has been developed for the quantitative determination of pharmacologically active alkaloids (maydine, reserpinine, kopsinine, tabersonine, norfluorocurarine) and their sum in roots of *Vinca herbacea* Walds. et Kit and related preparations. The proposed technique is well reproducible and adequately reflects the content of alkaloids in the roots and preparations of *Vinca herbacea*, which allows this method to be used for their standardization.

**Key words:** *Vinca herbacea* Walds. et Kit, alkaloids, spectrophotometry.