



НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА ХІМІЇ ПРИРОДНИХ СПОЛУК



СУЧАСНІ МЕТОДИ ФАРМАКОГНОСТИЧНОГО АНАЛІЗУ



Харків-2017

pedsovet.su

Мета курсу – овоїти сучасні підходи до аналізу та стандартизації нових видів лікарської рослинної сировини (ЛРС) та сировини тваринного походження.

Цілі:

➤ Знаходити необхідну інформацію з фітохімії в наукових джерелах інформації і користуватися нею у професійній діяльності;

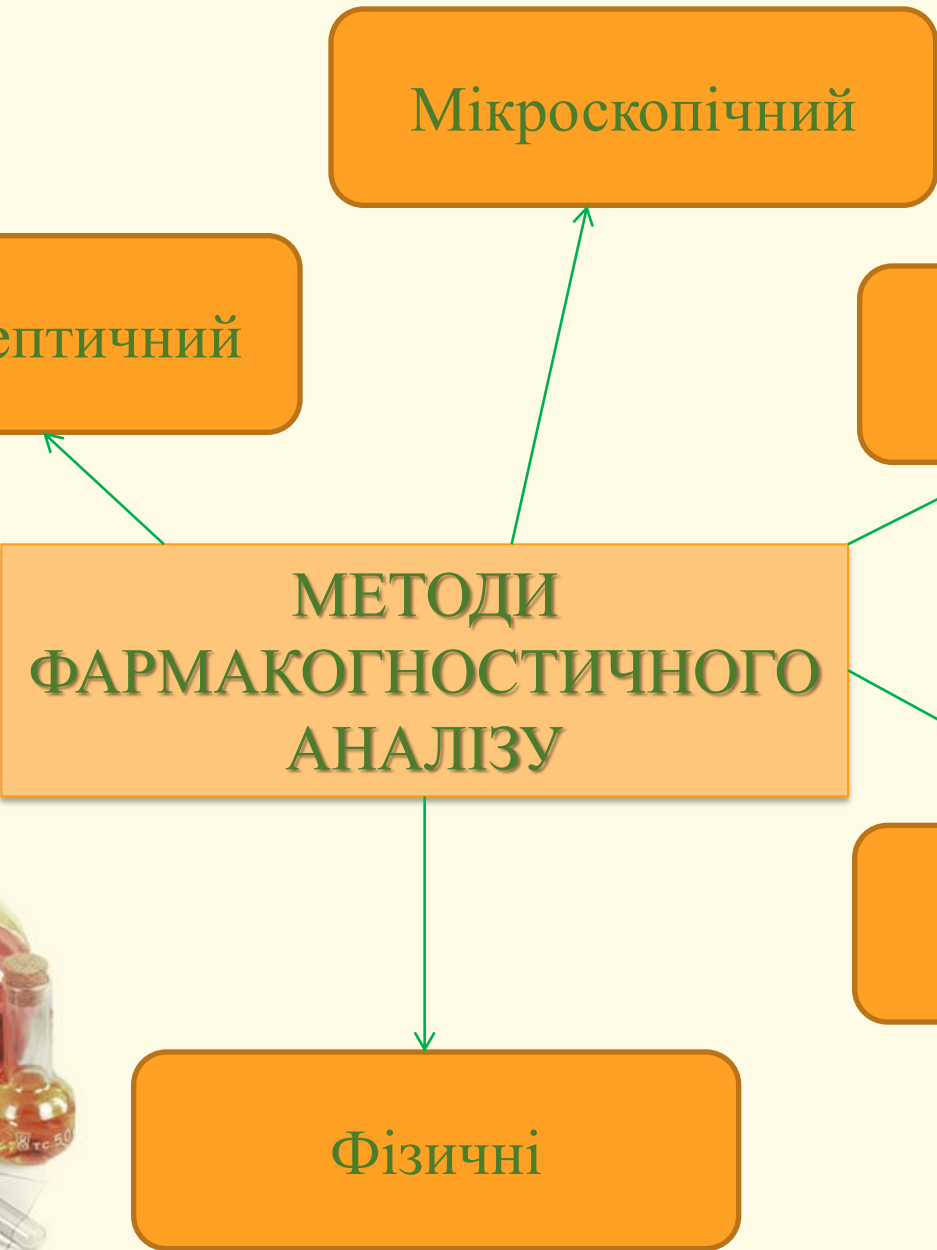
➤ Обирати перспективні об'єкти для поглибленого фітохімічного дослідження, використовуючи методи фармакогностичного скринінгу;

➤ Проводити морфолого-анатомічний, хімічний, хроматографічний та інструментальний аналіз ЛРС, яка містить різні групи біологічно активних речовин (БАР);

➤ Обирати методи вивчення досліджуваного об'єкту, проводити пробопідготовку та здійснювати модифікацію методик аналізу;

➤ На підставі результатів проведених досліджень обирати критерії стандартизації ЛРС та сировини тваринного походження.



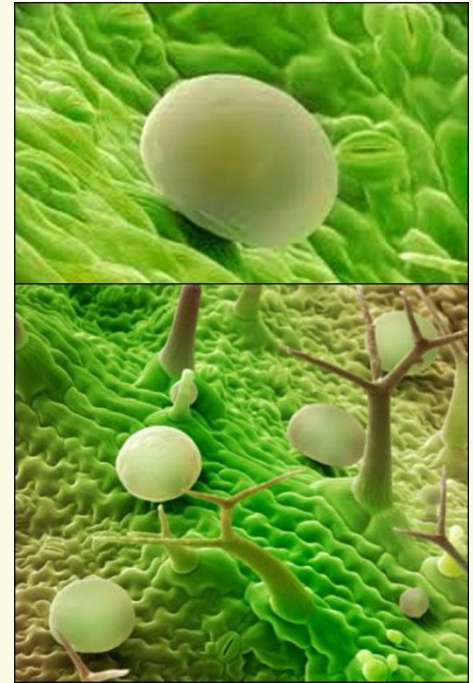


ОРГАНОЛЕПТИЧНИЙ МЕТОД

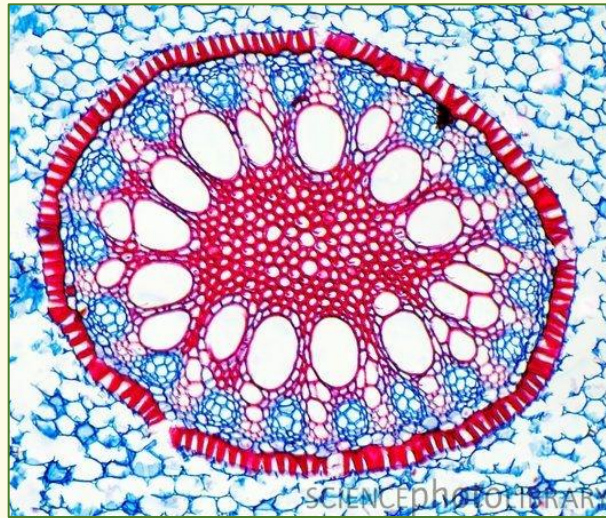


МІКРОСКОПІЧНИЙ МЕТОД

Верхня епідерма листа
петрушки листової



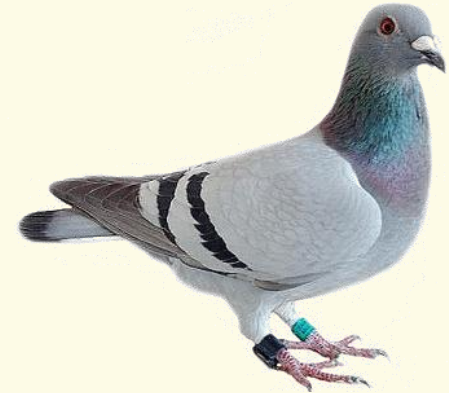
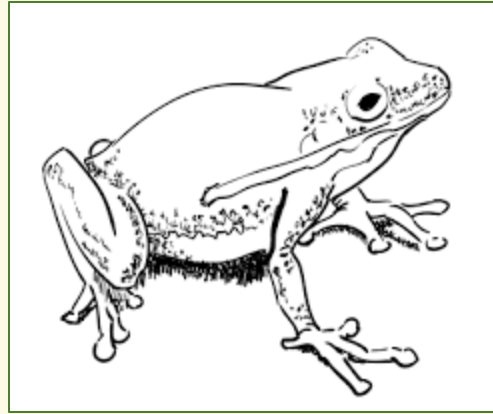
Верхня епідерма листа
шавлії



Зріз кореня ірису після забарвлення



БІОЛОГІЧНІ МЕТОДИ



Кількісне визначення кардіоглікозидів біологічним методом на кішках, жабах та голубах



Гемоліз

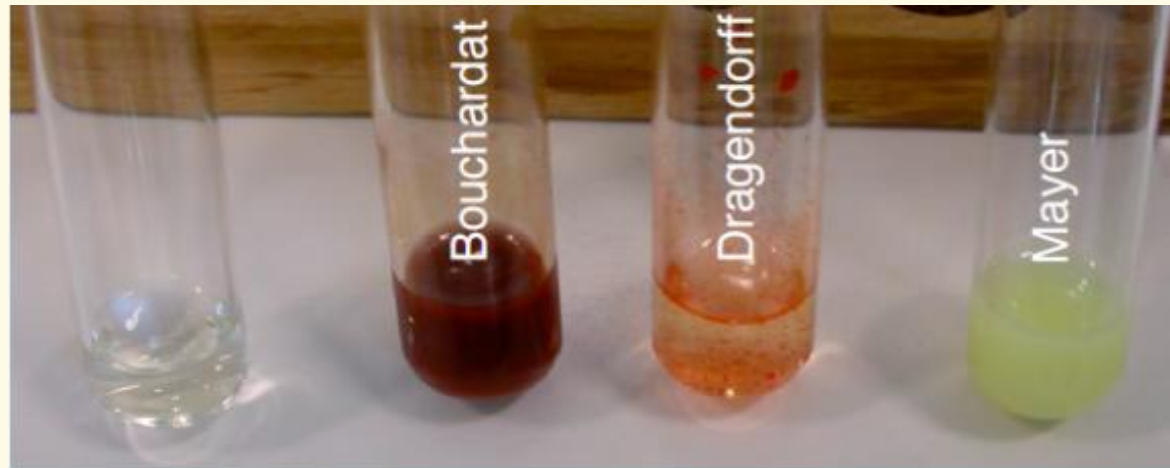
ХІМІЧНІ МЕТОДИ



Утворення газу в результаті хімічної реакції



Ідентифікація крохмалю

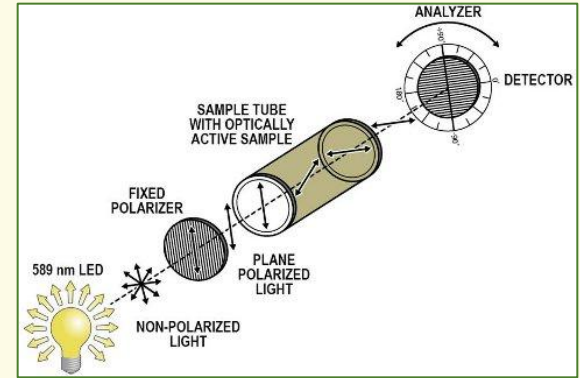


Ідентифікація алкалоїдів

ФІЗИЧНІ МЕТОДИ



Поляриметр



Принцип роботи поляриметра



Рефрактометр



Визначення пінного числа сапонінів

ФАКТОРИ, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА ЕКСТРАКЦІЮ БАР З ЛРС

- ✓ Ступінь здрібненості сировини;
- ✓ Різність концентрацій;
- ✓ Температура;
- ✓ Густина екстрагенту;
- ✓ Тривалість екстракції.



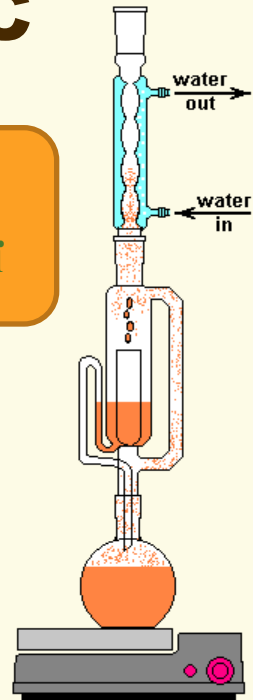
МЕТОДИ ЕКСТРАКЦІЇ БАР З ЛРС



Екстракція в апараті
Сокслета та її модифікації

Надкритична рідинна
екстракція

Ультразвукова екстракція



Твердофазна екстракція

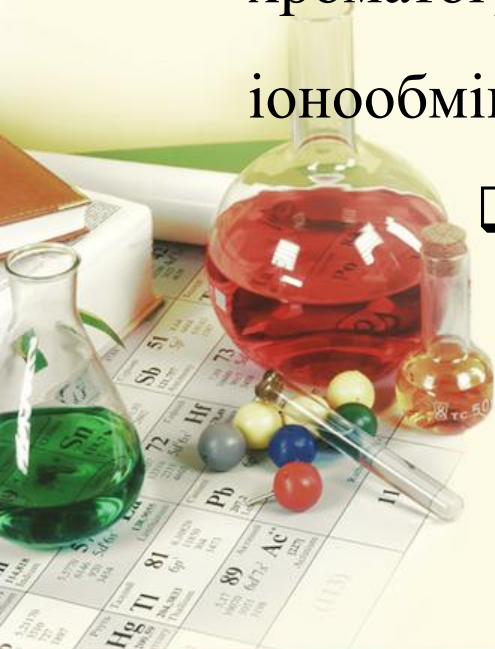


Прискорена рідинна
екстракція

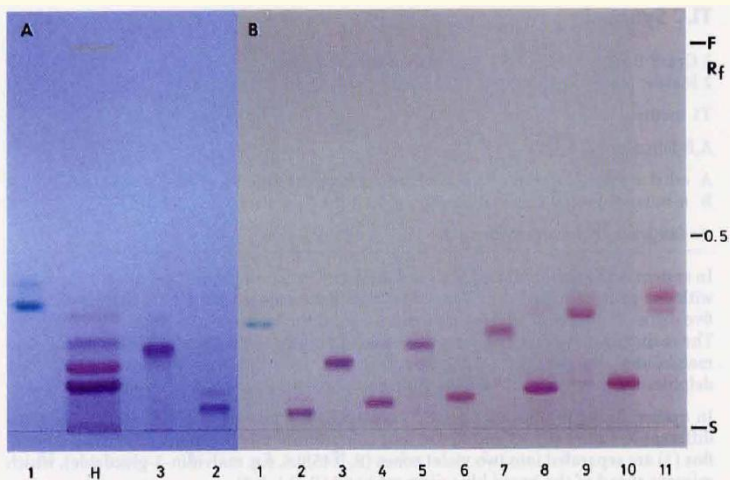


МЕТОДИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ БАР В ЛРС

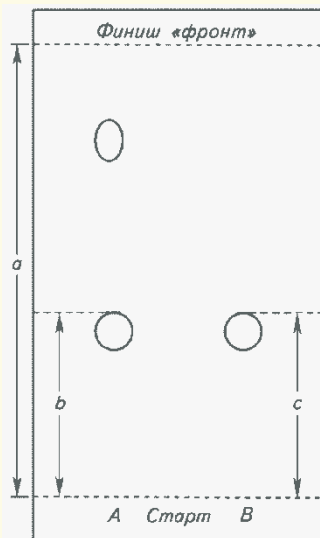
- ❑ Якісні реакції: групові та специфічні
- ❑ Хроматографічні методи: паперова хроматографія (ПХ), тонкошарова хроматографія (ТШХ), газова хроматографія (ГХ), високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), колонкова хроматографія, іонообмінна хроматографія та ін.
- ❑ Спектральні методи: ІЧ-спектроскопія, УФ-спектроскопія, ПМР-спектроскопія, мас-спектрометрія тощо



ТОНКОШАРОВА ХРОМАТОГРАФІЯ



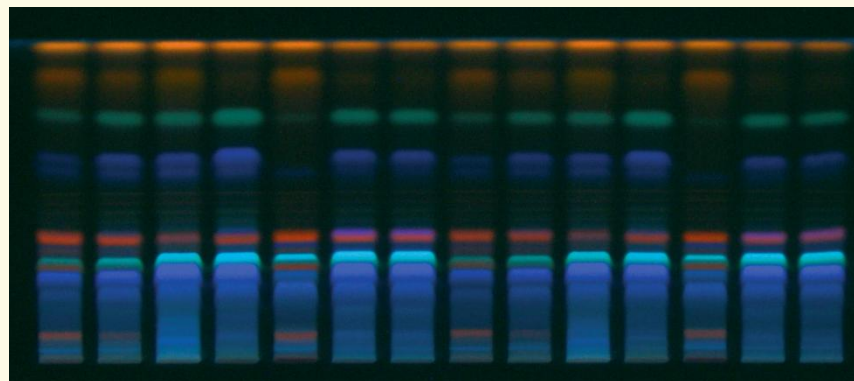
Хроматограма квіток гібіскусу, сис-ма розчинників: етилацетат-кислота оцтова льодяна-кислота мурашина-вода (100:11:11:26); без обробки реактивами



Загальна схема хроматограми

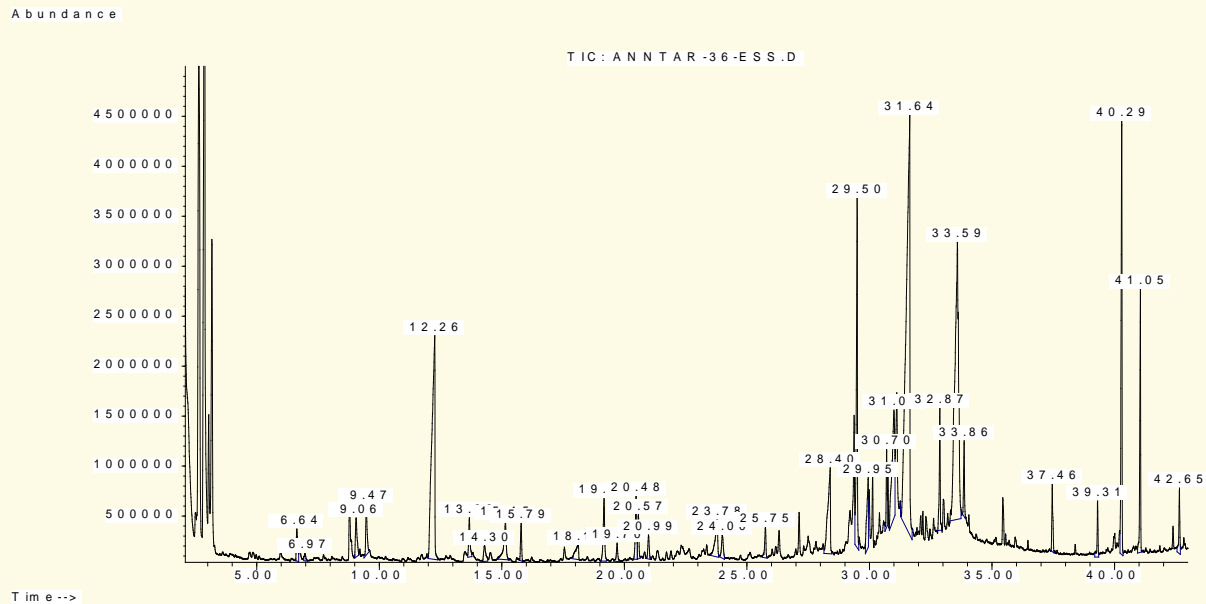


ТШХ-сканер



Хроматограма зразків ревеня

ГАЗОВА ХРОМАТОГРАФІЯ

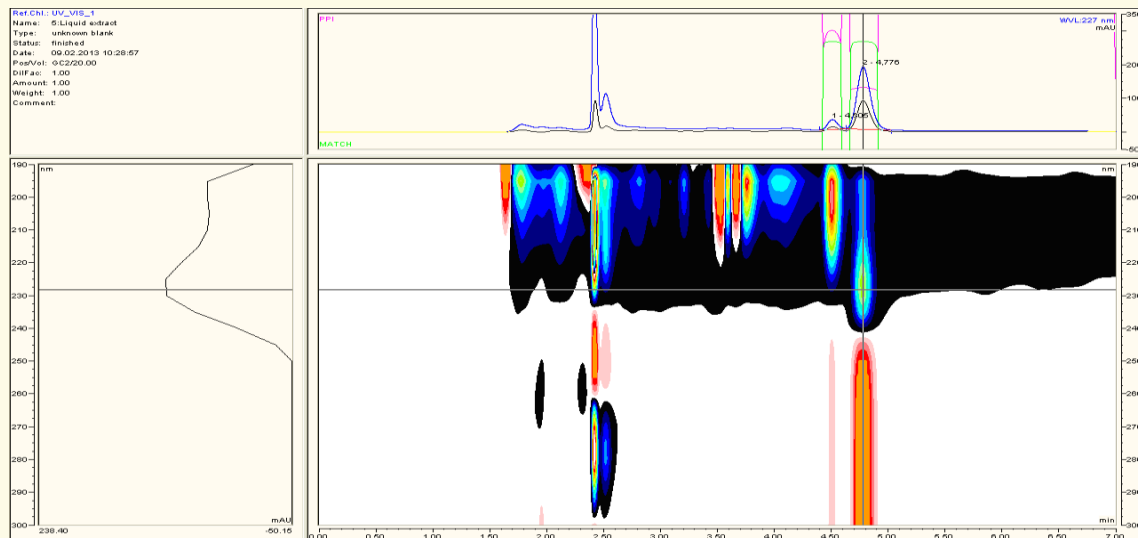


Газова хроматограма ефірних олій листя тифону

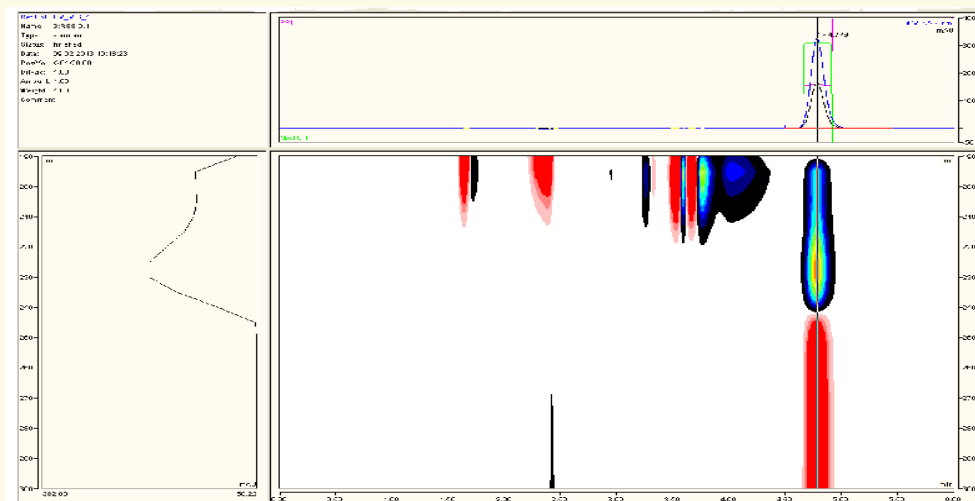


Газовий хроматограф

ВИСОКОЕФЕКТИВНА РІДИННА ХРОМАТОГРАФІЯ

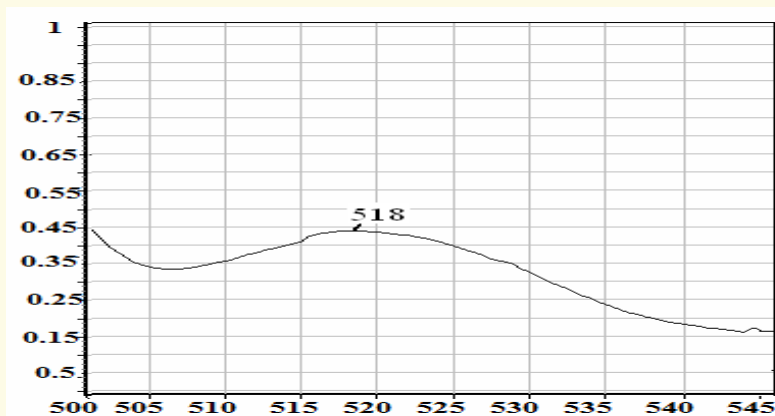


ВЕРХ визначення синігрину в густому екстракті з трави талабану польового.



ВЕРХ стандартного зразку синігрину

УФ-СПЕКТРОСКОПИЯ



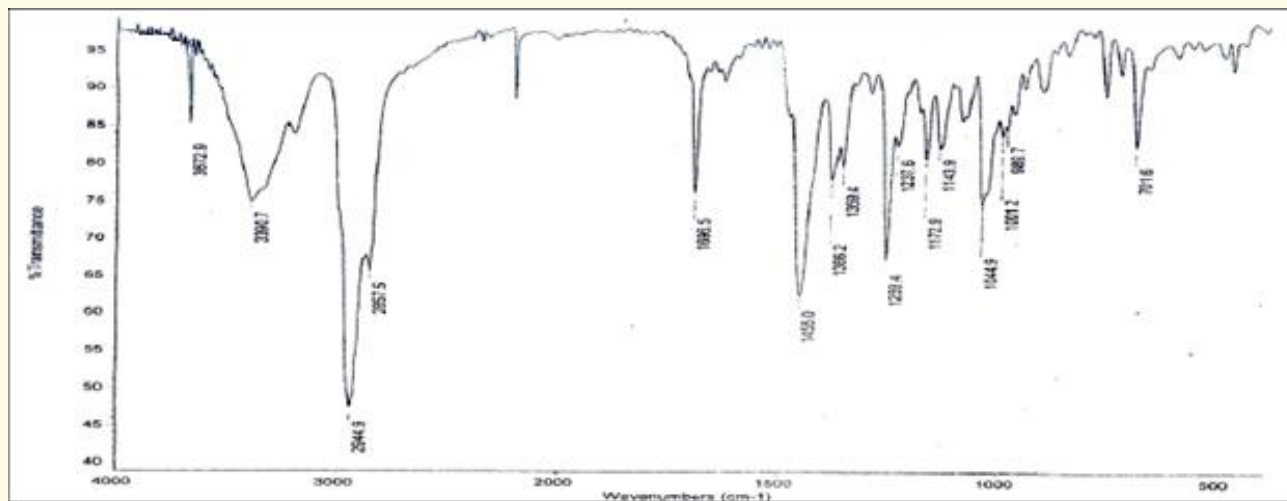
УФ-спектр густого
экстракту трави
талабану польового



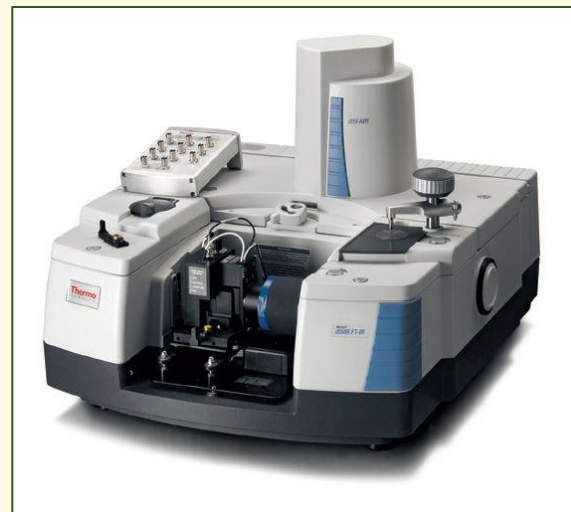
УФ-спектрофотометр Optizen POP



ІЧ-СПЕКТРОСКОПІЯ



ІЧ-спектр кислоти урсолової



ІЧ-спектрофотометр

ДЕЯКІ ТЕХНОЛОГІЧНІ ПАРАМЕТРИ СИРОВИНИ

Втрата в масі при висушуванні (ДФУ 1.0, 2.2.32). Визначення втрати в масі при висушуванні проводять одним з наведених способів і виражають у відсотках (маса/маса).

Методика. Зазначену в окремій статті кількість випробовуваної речовини поміщають у зважений бюкс, попередньо висушений за умов, описаних для випробовуваної речовини. Речовину сушать до постійної маси або протягом часу, зазначеного в окремій статті, одним з таких способів:

- а) "в ексикаторі": висушування проводять над фосфору(V) оксидом Р за атмосферного тиску і кімнатної температури;
 - б) "у вакуумі": висушування проводять над фосфору(V) оксидом Р за тиску від 1.5 кПа до 2.5 кПа і кімнатної температури;
 - в) "у вакуумі в межах зазначеного температурного інтервалу": висушування над фосфору (V) оксидом Р за тиску від 1.5 кПа до 2.5 кПа і температури, зазначеної в окремій статті;
 - г) "в межах зазначеного температурного інтервалу": висушування у сушильній шафі за температурного інтервалу, зазначеного в окремій статті;
 - д) "під високим вакуумом": висушування над фосфору (V) оксидом Р за тиску не більше 0.1 кПа і температури, зазначеної в окремій статті.
- Якщо зазначені інші умови, використовується методика повністю описується в окремій статті.

$$X = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m}$$

m – маса сировини до висушування, г;
 m_1 – маса сировини після висушування, г;
 X – вологість сировини, %.

Визначення вмісту екстрактивних речовин (за методикою ДФ СРСР XI видання).

Близько 1 г подрібненої сировини (точна наважка), просіяної крізь сито з отворами діаметром 1 мм, поміщали в конічну колбу місткістю 200-250 мл, додавали 50 мл дистильованої води, колбу закривали пробкою, зважували (з похибкою $\pm 0,01$ г) і залишали на 1 годину. Потім колбу з'єднували зі зворотним холодильником, нагрівали, підтримуючи слабе кипіння протягом 2 годин. Після охолодження колбу з вмістом закривали тією же пробкою, зважували й втрату в масі заповнювали розчинником. Вміст колби ретельно збовтували та фільтрували крізь сухий паперовий фільтр у суху колбу місткістю 150-200 мл. 25 мл фільтрату піпеткою переносили в попередньо висушену при температурі 100-105 °С до постійної маси і точно зважену фарфорову чашку діаметром 7-9 см і випарювали на водяній бані досуха. Чашку із залишком сушили при температурі 100-105 °С до постійної маси. Потім охолоджували протягом 30 хвилин в ексикаторі, на дні якого знаходився безводний хлорид кальцію, і негайно зважували.

Вміст екстрактивних речовин у відсотках (X) у перерахунку на абсолютно суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{m \cdot 200 \cdot 100}{m_1 \cdot (100 - W)}$$

m – маса сухого залишку, г;
 m_1 – маса сировини, г;
 W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.



ДЕЯКІ ТЕХНОЛОГІЧНІ ПАРАМЕТРИ СИРОВИНИ

Показник набухання (ДФУ 1.2, 2.8.4) являє собою об'єм, у мілілітрах, що займає 1 г випробуваного зразка після його набухання у водному середовищі протягом 4 год, з урахуванням клейкого слизу. 1,0 г лікарського засобу, у вихідному вигляді або здрібненого відповідно до зазначень в окремій статті, поміщають у градуйований скляний циліндр місткістю 25 мл, висотою (125 ± 5) мм, із ціною позначки 0,5 мл, споряджений притертою пробкою. Якщо немає інших зазначень в окремій статті, випробуваний зразок змочують 1,0 мл 96 % спирту Р, додають 25 мл води Р і закривають циліндр. Циліндр енергійно струшують через кожні 10 хв протягом 1 год, потім залишають на 3 год. Через 90 хв після початку випробування шляхом обертання циліндра навколо вертикальної осі вивільняють основний об'єм рідини, утримуваний шаром випробуваного зразка, та частки лікарського засобу, що знаходиться на поверхні рідини. Через 4 год після початку випробування вимірюють об'єм, що займає випробуваний зразок з урахуванням клейкого слизу. Паралельно виконують три випробування. Показник набухання розраховують як середнє значення результатів трьох випробувань.

Сторонні домішки (ДФУ 1.1, 2.8.2). Лікарська рослинна сировина не має містити цвілі, комах та інших домішок тваринного походження. Кількість сторонніх домішок не має перевищувати 2 % (м/м), якщо немає інших зазначень в окремій статті. Під сторонніми мають на увазі такі домішки:

Сторонні органи рослини: вони хоча і є органами цільової рослини, але не вважаються лікарськими.

Сторонні частки: домішки рослинного або мінерального походження, що не мають відношення до цільової рослини.

Визначення: Від 100 г до 500 г або мінімальну кількість випробуваного зразка, зазначену в окремій статті, зважують і розподіляють по поверхні тонким шаром. Неозброєним оком або з використанням лінзи зі збільшенням $\times 8$ виявляють сторонні домішки, потім їх відокремлюють, зважують і обчислюють відсотковий вміст.

За національною частиною: до сторонніх органів рослини можуть належати органи або частини органів рослини, що втратили нормальне забарвлення (побурілі, почорнілі та ін.), не відповідні опису зовнішніх ознак рослинної сировини, зазначеному в окремій статті, або органи або частини органів рослини, для яких в окремій статті зазначена межа вмісту. До сторонніх часток можуть належати домішки рослинного походження, що не мають відношення до цільової рослини (крім частин отруйних рослин, що мають бути відсутніми). Якщо необхідно, із наважки випробуваного зразка виділяють кілька груп домішок відповідно до вимог розділу "Сторонні домішки" окремої статті на лікарську рослинну сировину. Кожну групу виділених домішок зважують окремо і обчислюють відсотковий вміст кожної з них на всю взяту наважку випробуваного зразка. Відсотковий вміст сторонніх домішок кожної групи не має перевищувати меж, зазначених в окремій статті.

Коефіцієнт розподілу R_f - це величина, що характеризує ступінь зв'язування компонентів суміші БАР з носієм. Експериментально її обчислюють як відношення відстані від лінії старту до середини плями досліджуваної речовини до відстані, пройденої фронтом розчинника. Цей коефіцієнт є індивідуальним для кожної речовини в певній системі розчинників і для конкретного сорбенту. Він може залежати від температури і вологості повітря, тому орієнтуватися тільки на R_f при ідентифікації речовин не можна. Обов'язковим є використання речовини (так званого свідка) і порівняння R_f , отриманого для свідка дослідним шляхом, з табличним. При необхідності для речовин, що визначаються на хроматограми, вносять поправки.

