



М. Є. Блажеєвський¹, М. М. Кучер², В. В. Дядченко³, І. О. Юрченко⁴

Методи кількісного визначення пахікарпіну гідройодиду

¹Національний фармацевтичний університет, Харків,

²Львівський національний медичний університет,

³НТУ «Харківський політехнічний інститут»,

⁴Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: аналіз, титриметрія, пахікарпін.

Мета роботи – аналіз фахових літературних джерел стосовно кількісного визначення алкалоїду пахікарпіну різними методами та вибір серед них найбільш експресного та достатньо чутливого. На сьогодні запропоновано багато різноманітних методик здійснення кількісного визначення алкалоїду пахікарпіну, зокрема такими методами, як гравіметрія, ацидиметрія, аргентометрія, в тому числі з використанням ІСЕ, йодометрія, екстракційна фотометрія, колориметрія, амперометрія, потенціометрія, пряма іонOMETрія з ІСЕ, ТШХ, ВЕРХ і газова хроматографія високого тиску, а також ІЧ-, ЯМР-спектроскопія та хромато-мас-спектрометрія тощо. Зроблений висновок, що здебільшого відомі методики малочутливі, не вибіркові чи надто дорогі, трудомісткі та малодоступні. Вельми перспективним убачається застосування у практиці аналізу для визначення пахікарпіну або суми алкалоїдів хінолізидинового ряду в екстрактах відносно простої у виконанні, експресної та достатньо чутливої методики амперометричного титрування з використанням як аналітичного реагенту гетерополіаніонів (ГПА) структури Кеггіна – стандартного розчину 12-молібдофосфатної гетерополікислоти, а також методика прямого потенціометричного визначення з використанням ІСЕ на катіон пахікарпіну.

Методы количественного определения пахикарпина гидройодида

Н. Е. Блажеевский, М. М. Кучер, В. В. Дядченко, И. А. Юрченко

Цель работы – анализ специализированной литературы относительно количественного определения алкалоида пахикарпина разными методами и выбор среди них наиболее экспрессного и достаточно чувствительного. В настоящее время предложено много различных методик осуществления количественного определения алкалоида пахикарпина гравиметрически, ацидиметрически, аргентометрически, в том числе с использованием ИСЭ, ГХ, ИК, ЯМР-спектроскопически и хромато-масс-спектрометрически. Сделан вывод, что в большинстве случаев известные методики малочувствительны, не избирательны или слишком дороги, трудоёмки и малодоступны. Весьма перспективным представляется применение в практике анализа для определения пахикарпина или суммы алкалоидов хинолизидинового ряда в экстрактах относительно простой в исполнении, экспрессной и достаточно чувствительной методики амперометрического титрования с использованием как аналитического реагента гетерополианионов (ГПА) структуры Кеггина – стандартного раствора 12-молибдофосфатной гетерополикислоты, а также методики прямого потенциометрического определения с использованием ИСЭ на катион пахикарпина.

Ключевые слова: анализ, титриметрия, пахикарпин.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2015. – № 3 (19). – С. 87–92

Methods of quantitative determination of Sparteine hydroiodine

M. E. Blazheevskyy, M. M. Kucher, V. V. Dyadchenko, I. O. Yurchenko

Currently, there are many different methods of quantitative determination of alkaloid Sparteine amounts such as gravimetry, acidimetry, argentometry (including the use of ion-selective electrode), iodometry, extraction photometry, colorimetry, amperometry, potentiometry, direct ionometry with ion-selective electrode, thin layer chromatography, high-performance liquid chromatography and high pressure gas chromatography, also infrared and Nuclear magnetic resonance spectroscopy, chromatography-mass-spectrometry. It has been analyzed that most of the well-known methods are too insensitive, indiscriminate or too expensive, time-consuming and inaccessible. An application for analysis of amperometric titration techniques using both analytical reagent heteropolianions (GPA) Kehhina structure - standard solution 12-molibdophosphoric heteropolyacid and method of direct potentiometric determination using ISE for determining the choice amounts or amounts of alkaloids qinolizidine series in extracts are very promising, relatively simple in execution, express and sufficiently sensitive.

Key words: Analysis, Titrimetry, Sparteine.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2015; № 3 (19): 87–92

Алкалоїди – велика група органічних нітрогенівмісних речовин основного характеру, переважно рослинного походження, котрі не є продуктами розпаду білків і проявляють сильну біологічну дію. Більшість алкалоїдів за хімічною будовою є похідними

різноманітних гетероциклів і належать до третинних амінів.

Алкалоїди, похідні хінолізину та хінолізидину, широко поширені в рослинному світі й зустрічаються, зокрема в рослинах сімейств *Fabaceae*, *Euphorbiaceae*, *Nymphaeaceae*, *Lycopodiaceae*. Представниками цієї

групи алкалоїдів є цитизин і пахікарпін. Молекула пахікарпін містить два конденсовані хінолізидинові цикли. Він є стереоізомером добре вивченого спартеїну – *d*-спартеїн – обертає площину поляризованого світла праворуч: $[\alpha]_D$ - від +8,6 до +9,6° (7% етанольний розчин) [1] (рис. 1).

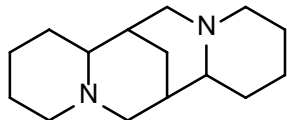


Рис. 1. Структурна формула пахікарпін.

Пахікарпін являє собою кристалічний порошок, що легко розчинний у хлороформі, у спирті та воді, важко розчинний у діетиловому етері й ацетоні. Водні розчини стійкі, їх можна стерилізувати при температурі 100° С.

У медичній практиці пахікарпін знаходить застосування як гангліоблокатор при гіпертонічних кризах і спазмах периферичних судин у дозах по 0,05–0,1 г (орально); засіб, котрий стимулює мускулатуру матки в дозах по 3–5 мл 3% розчину (підшкірно або внутрішньом'язово).

Пахікарпін гідройодид ($C_{15}H_{26}N_2 \cdot HI$) вперше знайдений у софорі товстоплідній сімейства бобових (*Sophora raphycarpa*). Вміст добутого шляхом екстракції водою при 85–90° С пахікарпін у рослині становить 0,4–0,7% у перерахунку на суху сировину. З пікриновою кислотою в середовищі етанолу утворюється жовтого кольору осад пікрату пахікарпін.

Мета роботи

Аналіз літературних джерел стосовно кількісного визначення алкалоїду пахікарпін різними методами та вибір серед них найбільш експресного та достатньо чутливого.

Оскільки пахікарпін притаманні слабкі основні властивості, вміст основної речовини в субстанції пахікарпін гідройодиду визначають методом *ацидиметрії* в середовищі зневодненої ацетатної кислоти у присутності гідраргіум ацетату з використанням як індикатора кристалічного фіолетового. 1,00 мл 0,1 моль/л розчину хлорної кислоти відповідає 0,01812 г пахікарпін гідройодиду. На один моль основи пахікарпін, котра містить два атоми Нітрогену, витрачається 2 моль хлорної кислоти [2].

Серед інших титриметричних методів використовують *аргентометрію* – для визначення за йодид-іонами. Біля 0,3 г (точна наважка) субстанції розчиняють у 30 мл 95% етанолу та титрують 0,1 моль/л ($f=1 AgNO_3$) у присутності індикатора натрій еозинату до зміни жовтуватого забарвлення у малинове. 1,00 мл 0,1 моль/л ($f=1 AgNO_3$) відповідає 0,03623 г пахікарпін гідройодиду. Вміст пахікарпін гідройодиду має бути не меншим ніж 99%.

Оскільки алкалоїди частіше всього входять до складу багатьох лікарських препаратів у вигляді гідрогалогенідів, їх поокреме визначення, зокрема в присутності інших компонентів, звичайними аналітичними методами вельми ускладнене та займає багато часу. Визначення

алкалоїдів у багатокомпонентних лікарських засобах утруднене ще й тому, що їхня концентрація зазвичай менша, ніж інших компонентів. Класичний метод потенціометричного титрування галогенідів алкалоїдів із використанням як титранту 0,01 моль/л розчину аргентум нітрату та галогенід-селективного електроду як індикаторного дає можливість здійснювати визначення з відносною помилкою від 0,6 до 2,3%, тобто з доволі великою в порівнянні з результатами аналізу інших сполук, що отримані з тими ж електродами, переважно через нечітку ідентифікацію кінцевої точки титрування [3].

Низка способів *непрямого* визначення заснована на осадженні алкалоїду у вигляді нерозчинних сполук із наступним встановленням надлишку титранту. Так, відомий метод, котрий заснований на осадженні полійодидів складу $[RN \cdot HI \cdot J_n]$. Визначення пахікарпін гідройодиду в комбінованих лікарських формах із фенобарбіталом запропоновано виконувати методом *йодометрії*. Наважку порошку розчиняють у 2–3 мл води в мірній колбі на 25 мл, додають 2–3 мл розбавленої сульфатної кислоти, 2–3 мл 10% розчину калій йодиду, 5 мл 0,05 моль/л йоду, доводять об'єм до позначки та перемішують. Через 30 хв розчин фільтрують через беззольний фільтр (синя стрічка). Перші порції фільтрату (3–5 мл) відкидають, а наступні 10,0 мл титрують 0,1 моль/л розчином натрій тіосульфату (індикатор крохмаль). Паралельно титрують 5,00 мл 0,05 моль/л розчину йоду розчином натрій тіосульфату. 1,00 мл 0,005 моль/л розчину йоду відповідає 0,007246 г пахікарпін гідройодиду. Молярна маса еквівалента дорівнює $M/4$ [4].

Алкалоїди в рослинній сировині зазвичай містяться у вигляді солей, тому для їхнього вилучення необхідно перевести солі алкалоїдів у вільні основи, що досягається обробкою сировини розчином амоніаку. Ізолювання вільних основ алкалоїдів із рослинної сировини здійснюють різноманітними органічними розчинниками. Оптимальним для алкалоїдів хінолізидину, за даними літератури [5,6], є хлороформ, що встановив В. П. Крамаренко ще у 1959 р. Вилучення виконується 6–8 разів до негативної реакції з силіцій-вольфрамовою кислотою. Разом з алкалоїдами у екстракт переходять супутні речовини: смоли, жирні кислоти та інші пігменти, від яких алкалоїди необхідно ізолювати. Екстракт алкалоїдів із рослинної сировини, що добутий екстракцією хлороформом, обробляють 5% розчином хлоридної кислоти 3–4 рази. Основи алкалоїдів із кислотою утворюють відповідні солі, котрі, розчиняючись у воді, переходять у водний шар, а основна маса супутніх речовин залишається в органічному розчиннику (хлороформі). До водного розчину солей алкалоїдів додавали 3–5% розчин лугу до рН 12 для переведення солей алкалоїдів у відповідні основи. Алкалоїди у вигляді основ екстрагують органічним розчинником (хлороформом). Цю процедуру повторюють двічі. Органічний розчинник відганяють. Залишок, котрий добутий після відгонки розчинника, – це суміш (сума) алкалоїдів у вигляді смол-

ки від солом'яно-жовтого до буро-коричневого кольорів. Одержану суму основ алкалоїдів доводять у сушильній шафі до постійної ваги при температурі 40–50 градусів протягом двох годин, потім зважують (*гравіметричний метод аналізу*) [7].

Фотоколориметричні способи визначення алкалоїдів засновані на властивостях препаратів алкалоїдів утворювати забарвлені сполуки з різноманітними реагентами.

Відома *екстракційно-фотометрична* методика кількісного визначення алкалоїдів люпину (люпанін і спартеїн) після попереднього їхнього ізолювання з рослинної сировини. Вона ґрунтується на вилученні хлороформом продукту взаємодії алкалоїдів із пікриновою кислотою [8,9]. Експериментально встановлено, що оптимальним значенням рН при екстракції алкалоїдів є 4–5. Надлишок пікринової кислоти не впливає на світлопоглинання продукту: забарвлення стійке протягом 24 годин. Точну наважку (майже 0,07 г окремо взятих РСЗ випробуваних алкалоїдів) розчиняли у 10 мл хлороформу, потім переносили у мірні колби на 25 мл і доводили до позначки (виготовлення розчинів РСЗ люпаніну та спартеїну). 1,0 мл розчину, що отримали, переносили у ділильну воронку, куди додавали 10 мл буферного розчину (16,6 г $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 0,5$ г NaOH і води до 50 г), 1 мл 1% розчину пікринової кислоти перемішували й тричі екстрагували протягом 30 секунд хлороформом (7 мл). Після розділення шарів хлороформні екстракти зливали в мірну колбу на 25 мл і доводили хлороформом до позначки. Світлопоглинання вимірювали на спектрофотометрі (кювета 10 мм). Розчин порівняння – хлороформ. Вміст алкалоїдів розраховували за значеннями оптичної густини та відповідних значень величин питомих показників ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) люпаніну (74,11) та спартеїну (75,04). Суму алкалоїдів після їх попереднього вилучення з зерен розчиняли у 10 мл хлороформу, переносили в мірну колбу на 25 мл. Надалі операції виконували як першу з розчинами РСЗ алкалоїдів. За одержаними даними розраховували вміст кожного алкалоїду в сировині. Результати методу гравіметрії зіставляли з такими, що отримані методом спектрофотометрії. Показано, що вміст суми алкалоїдів в різних сортах люпину становив від 0,26 до 1,51% (метод гравіметрії), або 0,25–1,35%.

Розроблений авторами праці [10] *екстракційно-фотометричний* метод передбачає попереднє ізолювання пахікарпіну з сировини методом перегонки з водяною парою з 0,5% розчину натрій гідроксиду, а відтак відокремлення від супутніх алкалоїдів за допомогою ТШХ із наступним визначенням його у вигляді забарвленої сполуки з тропеоліном 000-II ($\lambda_{\text{макс}}=510$ нм) у хлороформному елюаті. При наважці сировини 1 г із розміром частинок не більше ніж $1 \cdot 10^{-3}$ м необхідно відганяти 150 мл рідини. Оскільки пахікарпін у вигляді основи швидко темніє й осмолотється на повітрі, рекомендується відганяти його у приймач із 2 мл 0,05 моль/л розчину сульфатної кислоти.

До 5,00 мл дистилляту додають 5 мл цитриново-фосфат-

ного буферного розчину з рН 7,0; 5 мл хлороформу та 0,1 мл 1% розчину тропеоліну 000-II, збовтують протягом 1 хв і дають відстоятися. Нижній шар має бути безколірним. Відгін переносять у ділильну воронку на 500 мл, підлужнюють розчином амоніаку до рН 9-10, алкалоїди вилучають хлороформом 5–6 разів порціями по 10–15 мл (до негативного результату з силіцій-вольфрамовою кислотою). Хлороформний витяг фільтрують через паперовий фільтр із 5 г безводного натрій сульфату, що попередньо змочений хлороформом, у колбу на 100 мл. Хлороформ відганяють на водяному огрівнику до об'єму 1–2 мл, залишок розчинника видаляють шляхом продування повітрям. Сухий залишок розчиняють у 5,0 мл хлороформу і використовують для хроматографування. Найбільш чітке розділення алкалоїдів досягається на пластині із лужним шаром силікагелю в системі розчинників ацетон – бензин – ізопропанол – 25% розчин амоніаку (12:6:6:1).

По 0,1 мл (100 мкг) наносять мікропіпеткою на лінію старту пластини розміром 13 на 18 см та поділеної на смуги завширшки 3 см із закріпленням лужним шаром силікагелю LSL-254 (3 г сорбенту та 10 мл 0,1 моль/л натрій гідроксиду). Першу смугу залишають вільною для отримання розчину порівняння. Розчини наносять смугами довжиною 1–1,2 см кожна. Пластину хроматографують при кімнатній температурі. Проявник – реактив Драгендорфа. Ділянки з плямами пахікарпіну з контрольної смуги кількісно переносять у ділильну воронку з 7–10 мл хлороформу, 10 мл цитриново-фосфорного буферного розчину з рН 7,0 та 0,5 мл 1% розчину тропеоліну 000-II. Те, що вміщене у воронці, збовтують 1–2 хв, і відстояний хлороформний шар зливають через паперовий фільтр із 2 г безводного натрій сульфату в мірну колбу на 25 мл. Процедура повторюють тричі до повного знебарвлення хлороформного шару. Об'єм у мірній колбі доводять до позначки і перемішують. Світлопоглинання хлороформного розчину вимірюють на фотоколориметрі при 490 нм у кюветі з товщиною поглинаючого шару 2 см, використовуючи як компенсаційний розчин елюат із контрольної смуги. Вміст пахікарпіну гідрохлориду знаходять за наперед побудованим градувальним графіком, що одержаний за даними в аналогічних умовах модельними сумішами РСЗ пахікарпіну основи в інтервалі від 40 до 200 мкг алкалоїду на пластині (вихідний хлороформний розчин РСЗ містить 2 мг до 1 мл пахікарпіну основи). Вміст пахікарпіну у випробуваній рослинній сировині трави становив 0,52–1,16% у перерахунку на абсолютну суху масу сировини. За результатами аналізу трьох серій зразків при триразовому визначенні відносна помилка не перевищувала 4%.

Для кількісного визначення алкалоїдів усе більш широкое застосування знаходять високочутливі фізико-хімічні методи, зокрема *електрохімічні* методи (*полярографія, амперометрія, потенціометрія, іонометрія з ICE*).

Осаджувальне *потенціометричне* титрування засноване на утворенні малорозчинних сполук, зокрема

малорозчинних солей аргентуму та гідраргіуму. Ці методи найчастіше використовують для визначення галогенід-іонів. Тому цей метод представляє інтерес для кількісного визначення лікарських речовин, котрі є солями хлоридної, бромідної або йодидної кислот. Як індикаторні електроди застосовують срібний або ртутний, а як електроди порівняння – хлоридосрібний або каломелевий.

Осаджувальне титрування можливе, якщо в кінцевій точці титрування (КТТ) невелика добавка титранту AgNO_3 , $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ чи $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$ викликає помітну зміну величини $p\text{Cl}^-$, $p\text{Br}^-$ або $p\text{I}^-$ (де $p=-\lg$). Скачок потенціалу у КТТ залежить від концентрації аналіту та титранту, а також від добутку розчинності продукту реакції осадження.

Відомий спосіб визначення сумарного вмісту алкалоїдів методом *потенціометричного титрування* з використанням оборотного до органічних катіонів іоно-селективного електрода та натрій тетрафенілборату як титранту. Мембрана іоноселективного електрода складається з полівінілхлориду (25 мас. %), дибутилфталату (70 мас. %) і триоктоксибензенсульфоїкислоти (5 мас. %). Як електрод порівняння використовували насичений натрій хлоридом хлоридосрібний електрод, для вимірювання потенціалу – потенціометр (універсальний іонімір).

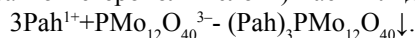
Біля 0,2 г суміші (точна наважка) складу: папаверину гідрохлориду та 0,1 г пахікарпіну гідройодиду поміщають у мірну колбу на 50 мл, розчиняють у невеликому об'ємі дистильованої води та доводять тією ж водою до позначки і ретельно перемішують. Точно відібраний об'єм розчину (20 мл) переносять у хімічний стакан на 50 мл і при перемішуванні магнітним перемішувачем доводять величину водневого показника рН до 2,4 концентрованим розчином HCl , використовуючи для контролю скляний електрод. Потім до аналізованого розчину невеликими порціями з бюретки з ціною поділки 0,1 мл приливають 0,01 моль/л розчин натрій тетрафенілборату. Після кожної доданої порції титранту розчин витримують 10–15 с та знімають відповідні значення величини потенціалу (електрорушійної сили кола). На ділянці поблизу КТТ розчин тетрафенілборату приливають порціями по 0,1 мл. За результатами будують криву титрування в координатах $E-V$ і знаходять об'єм розчину тетрафенілборату, котрий відповідає КТТ. За його значенням розраховують сумарний вміст алкалоїдів у суміші [11]. Дані статистично опрацьовують за результатами п'яти аналізів. Відносна помилка становила 0,5%.

Відомий спосіб кількісного визначення пахікарпіну гідройодиду за галогенід-іоном методом амперометричного титрування розчином аргентум нітрату. Кінцеву точку знаходили графічно за струмом відновлення іонів аргентуму на мікроелектроді при потенціалі +0,2 В (стосовно нас. кал. електрода) [12]. Однак аргентум нітрат доволі дорогий, а для виготовлення його розчинів необхідна деіонізована вода та спеціальні умови зберігання. Цей спосіб виконання аналізу через відносно високу концен-

трацію титранту (0,01 моль/л) характеризується низькою чутливістю та точністю. Крім того, він не є вибірковою до інших галогенід-іонів, котрі можуть міститися в комбінованих лікарських формах, що звужує його функціональні можливості.

Пряме амперометричне титрування пахікарпіну гідройодиду у праці [13] запропоновано виконувати з використанням індикаторного – торцевого графітового обертового електрода та електрода порівняння – насиченого калій хлоридом каломельного напівелемента з індикацією кінцевої точки титрування за силою дифузійного струму електровідновлення аналітичного реагенту – стандартного розчину 12-молібдофосфатної гетерополікислоти (МФК).

Схема взаємодії органічного катіона пахікарпіну (Pah^{1+}) із гетерополіаніоном $\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$ 12-молібдофосфатної гетерополікислоти має вигляд:



0,3620 г субстанції пахікарпіну розчиняють у дистильованій воді та кількісно переносять у мірну колбу на 100,0 мл, а відтак доводять до позначки дистильованою водою. Аліквотний об'єм виготовленого розчину пахікарпіну (2,00 мл) вносять у електрохімічну комірку за допомогою розбавлених розчинів кислоти (H_2SO_4) і/або лугу (NaOH) доводять рН розчину в межах 4,0–5,5 (за універсальним індикаторним папірцем), на електроди подають напругу +0,05 В та через 2–3 хвилини фіксують величину «нульового» струму. Титрують попередньо виготовленим $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л водним розчином МФК порціями по 0,1–0,2 мл. Величину сили дифузійного струму фіксують через 30–35 с після додавання титранту. Амперометричне титрування закінчують після встановлення постійного значення сили струму та визначають об'єм витраченого на титрування титранту графічно за кривою титрування. Показано, що середній вміст основної речовини в субстанції пахікарпіну гідройодиду становив 100,55%, $\text{RSD}=0,94\%$ ($n=7$, $P=0,95$). ($\delta=0,51\%$). МКВ (розрахована за 10s критерієм) становить 0,82 мг до 20 мл кінцевого об'єму. Час одноразового аналізу не перевищував 10–12 хв. Запропонований метод більш чутливий, точний і простий у виконанні, а також вибірковою до хлорид та бромід-іонів; дозволяє вибірково визначати пахікарпіну гідройодид у присутності хлорид-або бромід-іонів.

За даними титрування таким способом можливе кількісне визначення суми алкалоїдів хінозилідинового ряду у рослинній сировині. Так, був виконаний розрахунок середньої молярної маси алкалоїдів в екстрактах насіння та коренів люпину, котрий здійснювали, виходячи з чотирьох алкалоїдів: люпаніну ($\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{ON}_2$), люпініну ($\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{ON}$), пахікарпіну ($\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_2$) і гідроксілюпаніну ($\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{N}_2$). Їхня сумарна молярна маса становить 909 г/моль. Для розрахунків суми алкалоїдів в екстрактах люпину за експериментальними даними обчислювали середнє значення молярної маси алкалоїдів, котра дорівнювала $909:4=227,25$ г/моль ($M_{\Sigma\text{alk}}$). Титрування суми алкалоїдів

в екстракті насіння люпину розчином МФК виконували при рН 5,5.

Розрахунок вмісту суми алкалоїдів в екстракті насіння люпину здійснювали за формулою:

$$m = \frac{C_{\text{МФК}} \cdot V_{\text{МФК}}}{1000} \cdot 3 \cdot M_{\Sigma \text{alk.}},$$

де $C_{\text{МФК}}$ – молярна концентрація гетерополікислоти, моль/л; $V_{\text{МФК}}$ – об'єм титранту, який був витрачений на титрування, мл; $M_{\Sigma \text{alk.}}$ – молярна маса суми алкалоїдів, яка дорівнює 227,25 г/моль, 3 – стехіометричний коефіцієнт реакції між взаємодіє ГПА $\text{P}M\text{o}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$ з сумою алкалоїдів. Результати кількісного визначення суми алкалоїдів у сухому екстракті насіння та коренів люпину показали, що при визначенні від 1,2 до 5,1 мг суми алкалоїдів $RSD < 0,9\%$ ($n=7$, $P=0,95$). $\delta=0,1-0,2\%$. $LOQ=0,07$ мг до кінцевого об'єму 20 мл.

Нещодавно опрацьована нова методика іонометричного визначення пахікарпіну гідройодиду в субстанції та екстракті насіння люпину за допомогою чутливого до катіона пахікарпіну ІСЕ [14]. Як електродноактивну речовину при опрацюванні твердотілого іон-селективного електрода на основі полівінілхлориду використали малорозчинну сполуку з іонно-асоціативним характером зв'язку складу $(\text{Pah})_3\text{P}M\text{o}_{12}\text{O}_{40}$, котру добули автори праці. Як пластифікуюча рідина авторами використані дибутилфталат і діоктилфталат. Показано, що в межах рН 2,5–9,0 кутовий нерствівський коефіцієнт дорівнював 57–64 В/рс, а лінійна залежність електрорушійної сили кола від концентрації аналіту зберігалась в інтервалі $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-2}$ моль/л. При визначенні міліграмових кількостей пахікарпіну у водному екстракті насіння та коренів люпину $RSD=0,07-0,1$ ($\delta=0,56-0,85\%$).

$LOD = 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

Одноразове визначення становить 5–7 хв.

У науковій літературі також описані інші методики здійснення ідентифікації та кількісного визначення пахікарпіну з використанням сучасних високочутливих фізичних і фізико-хімічних методів аналізу, зокрема ЯМР- та хромато-мас-спектрометрії, ВЕРХ і газової хроматографії високого тиску, а також осцилополярографії, ІЧ-спектроскопії тощо [5,15–18]. Вони переважно малоприматні для рутинних лабораторних досліджень, бо вимагають наявності дорогого обладнання та високої кваліфікації спеціалістів [19].

Висновки

На сьогодні запропоновано багато різноманітних методик здійснення кількісного визначення алкалоїду пахікарпіну такими методами, як гравіметрія, ацидиметрія, аргентометрія, зокрема з використанням ІСЕ, йодометрія, екстракційна фотометрія, колориметрія, амперометрія, потенціометрія, пряма іонометрія з ІСЕ, ТШХ, ВЕРХ і газова хроматографія високого тиску, а також ІЧ-, ЯМР-спектроскопія та хромато-мас-спектрометрія тощо. Зроблений висновок, що здебільшого відомі методики малочутливі, не вибіркові чи надто дорогі, трудомісткі й малодоступні. Вельми перспективним убачається застосування у практиці аналізу для визначення пахікарпіну або суми алкалоїдів хінолізидинового ряду в екстрактах відносно простої у виконанні, експресної та достатньо чутливої методики амперометричного титрування з використанням як аналітичного реагенту гетерополіаніонів (ГПА) структури Кеггіна – стандартного розчину 12-молібдофосфатної гетерополікислоти, а також методика прямого потенціометричного визначення з використанням ІСЕ на катіон пахікарпіну.

Список літератури

- Орехов А.П. Химия алкалоидов / А.П. Орехов. – М. : АН СССР, 1955. – 828 с.
- Методы анализа лекарств / Н.П. Максютин, Ф.Е. Каган, Л.А. Кириченко, Ф.А. Митченко. – К. : Здоров'я, 1984. – 224 с.
- Байулеску Г. Применение ион-селективных мембранных электродов в органическом анализе : пер. с англ. / Г. Байулеску, В. Кошофреэ. – М. : Мир, 1990. – 230 с.
- Кока І.П. Йодометричне визначення прозерину, пахікарпіну гідро йодиду, димедролу і фенацетину в деяких лікарських сумішах / І.П. Кока // Фармацевтичний журнал. – 1983. – №3. – С. 63–64.
- Музыкакина Р.А. Качественный и количественный анализ основных групп БАВ в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах / Р.А. Музыкакина, Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов. – Алматы : Қазақ университеті, 2004. – 288 с.
- Электрохимический синтез биологически активного вещества пахикарпина / Т.А. Имангалиев, Т.К. Акилов, К.А. Джалилов и др. // Фундаментальные исследования. – 2013. – №10–12. – С. 2644–2648.
- Лизунова Г.М. Обзор методов количественного определения алкалоидсодержащих лекарственных препаратов / Г.М. Лизунова, Е.В. Ямбулатова // Молодой ученый. – 2013. – №5. – С. 187–192.
- Попова О.И. Исследование различных сортов люпина с целью дальнейшего практического использования / О.И. Попова, С.П. Сенченко, Н.С. Ляхова // Новые и редкие растения Северного Кавказа : 1-я регион. конф. 27–28 ноября 2003 г. – Владикавказ, 2003. – Ч. 2. – С. 28–30.
- Гаврилин М.В. Экстракционно-фотометрическое определение алкалоидов в семенах люпина / М.В. Гаврилин, С.П. Сенченко, О.И. Попова // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – Т. 40. – №5. – С. 37–40.
- Лькова Р.В. Количественное определение пахикарпина в траве софоры толстоплодной / Р.В. Лькова, А.В. Гаевский // Химико-фармацевтический журнал. – 1980. – №3. – С. 74–76.
- Способ определения папаверина и пахикарпина при совместном присутствии / Г.Л. Старобинец, В.В. Егоров, В.А. Репин // А.с. СССР № 1291862 А1. G 01 N27/30. Заявк. № 3973113/28-14 от 29.10.85. Бюл. № 7 от 23.02.87.
- Мискиджян С.П. Полярграфия лекарственных препаратов / С.П. Мискиджян, Л.П. Кравченко. – К. : Виш. шк., 1976. – С. 232.
- Амперометричне визначення пахікарпіну гідро йодиду в субстанції з використанням аналітичного реагента – 12-молібдофосфатної гетерополікислоти / О.С. Пантелеева, Х.П. Акрідіту, М.М. Кучер, В.І. Ткач // Вопросы химии и химической технологии. – 2014. – Т. 5–6(198). – С. 40–43.
- Пантелеева О.С. Ионометричне визначення пахікарпіну в субстанції та водних екстрактах коренів і насіння люпину / О.С. Пантелеева, В.І. Ткач // Вопросы химии и химической технологии. – 2015. – Т. 2(100). – С. 69–73.
- Растительные источники хинолизидиновых алкалоидов на территории республики Башкортостан. II. Алкалои-

- ды *Termopsis Schischkini* / И.П. Цыпишева, Е.Г. Галкин, А.С. Ерастов и др. // Химия растительного сырья. – 2013. – №4. – С. 55–60.
16. І. Алкалоїди *Termopsis Schischkini* u *Termopsis Lanceolata* SSP. *Sibirica* (Fabaceae) в умовах інтродукції / И.П. Цыпишева, Е.Г. Галкин, А.С. Ерастов и др. // Химия растительного сырья. – 2012. – №4. – С. 181–186.
17. Petruczynic A. Analysis of alkaloids from different chemical groups by different liquid chromatography methods / A. Petruczynic // Cent. Eur. J. Chem. – 2012. – Vol. 10. – №3. – P. 802–835.
18. Количественное определение алкалоидов в люпине: методическое пособие / А.И. Артухов, Т.В. Яковенко, Е.В. Афонина, Л.В. Трошина. – Брянск: ГНУВНИИ, 2012. – 157 с.
- ### References
1. Orehov, A. P. (1955) *Himiya alkaloidov* [Chemistry alkaloids]. Moscow: AN SSSR. [in Russian].
2. Maksiyutina, N. P., Kagan, F. E., Kirichenko, L. A., & Mitchenko, F. A. (1984) *Metody analiza lekarstv* [Methods of analysis of drugs]. Kyiv: Zdorov'ya. [in Ukrainian].
3. Bayulesku, G., & Koshofrec B. (1990) *Primenenie ion-selektivnykh membrannykh e'lektrodov v organicheskom analize* [Application of the ion-selective membrane electrode in the organic analysis]. Moscow: Mir. [in Russian].
4. Koka, I. P. (1983) Yodometrychne vyznachennia prozerynu, pakhikarpinu hidro yodydu, dymedrolu i fenatsetynu v deiakykh likarskykh sumishakh [Prozerina iodometric determination, choice amounts hydro iodide dimedrol fenatsetina and some medicinal mixtures]. *Farmatsevychnyi zhurnal*, 3, 63–64. [in Ukrainian].
5. Muzychkina, R. A., Korul'kin, D. Yu., & Abilov, Zh. A. (2004) *Kachestvennyj i kolichestvennyj analiz osnovnykh grupp BAV v lekarstvennom rastitel'nom syr'e i fitopreparatakh* [Qualitative and quantitative analysis of the main groups of biologically active substances in medicinal herbs and fitopreparatakh]. Almaty: Kazak universiteti. [in Kazakhstan].
6. Imangaliev, T. A., Akilov, T. K., Dzhaliyov, K. A., Adikhodzhaeva, K. B., Toktibaeva, K. R., Atakhanova, N. A., & Alpysbaeva, E. T. (2013) E'lektrokhimicheskij sintez biologicheski aktivnogo veshhestva pakhikarpina [Electrochemical synthesis of biologically active substances pahikarpin]. *Fundamental'nye issledovaniya*, 10–12, 2644–2648. [in Russian].
7. Lizunova, G. M., & Yambulatova, E. V. (2013) Obzor metodov kolichestvennogo opredeleniya alkaloidsoderzhashhikh lekarstvennykh preparatov [Review of methods of quantifying the alkaloids contained drugs]. *Molodoj uchenyj*, 5, 187–192. [in Russian].
8. Popova, O. I., Senchenko, S. P., & Lyakhova, N. S. (2003) Issledovanie razlichnykh sortov lyupina s cel'yu dal'nejshogo prakticheskogo ispol'zovaniya [Investigation of different lupine varieties for further practical use]. *Novye i redkie rasteniya Severnogo Kavkaza*. Proceedings of the 1st Regional Scientific and Practical Conference, 2, (S. 28–30). Vladikavkaz. [in Russian].
9. Gavrillin, M. V., Senchenko, S. P., & Popova, O. I. (2006) E'kstrakcionno-fotometrycheskoe opredelenie alkaloidov v semenakh lyupina [Extraction-photometric determination of alkaloids in lupine seeds]. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal*, 40(5), 37–40. [in Russian].
10. Lykova, R. V. & Gaevskij, A. B. (1980) Kolichestvennoe opredelenie pakhikarpina v trave sofory tolstoplodnoj [Quantitative determination pahikarpin in the grass Sophora tolstoplodnoj]. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal*, 3, 74–76. [in Russian].
11. Starobinec, G. L., Egorov, V. V., Repin, V. A. (1987) Sposob opredeleniya papaverina i pakhikarpina pri sovместном prisutstvii [A method for determining papaverine and pilocarpine in the joint presence]. A.c. SSSR №1291862 A1. G 01 N27/30. Zajavk. №3973113/28-14 of 29.10.85. *Bjul.*, 7. [in Russian].
12. Miskidzh'yan, S. P., & Kravchenyuk, L. P. (1976) *Polyarografiya lekarstvennykh preparatov* [Polarography drugs]. Kyiv: Vishh. shk. [in Ukrainian].
13. Panteleieva, O. S., Akriditu, Kh. P., Kucher, M. M., & Tkach, V. I. (2014) Amperometrychne vyznachennia pakhikarpinu hidro yodydu v substansii z vykorystanniam analitychnoho reahenta – 12-molibdofosfatnoi heteropolikysloty [Amperometric determination hydro iodide choice amounts in substance using Analytical Reagents - 12 molibdofosfatnoyi heteropolyacid]. *Voprosy khimii i khimicheskoy tekhnologii*, 5–6(198), 40–43. [in Ukrainian].
14. Panteleieva, O. S., & Tkach, V. I. (2015) Ionometrychne vyznachennia pakhikarpinu v substansii ta vodnykh ekstraktakh koreniv i nasinnia liupinu [Ionometrychne determining the choice amounts in substance and water extracts of roots and seeds Lupin]. *Voprosy khimii i khimicheskoy tekhnologii*, 2(100), 69–73. [in Ukrainian].
15. Cypisheva, I. P., Galkin, E. G., Erastov, A. S., Karimova, O. A., Bajkova, I. P., Koval'skaya, A. V., et al. (2013) Rastitel'nye istochniki khinolizidinovykh alkaloidov na territorii respubliki Bashkortostan. II. Alkaloidy *Termopsis Schischkini* [Plant sources quinolizidine alkaloids in the territory of the Republic of Bashkortostan. II. Alkaloids *Termopsis Schischkini*]. *Himiya rastitel'nogo syr'ya*, 4, 55–60. [in Russian].
16. Cypisheva, I. P., Galkin, E. G., Erastov, A. S., Karimova, O. A., Bajkova, I. P., Rakhimov, R. G., et al. (2012) I. Alkaloidy *Termopsis Schischkini* i *Termopsis Lanceolata* SSP. *Sibirica* (Fabaceae) v uslovijah introdukcii [I. Alkaloids *Termopsis Schischkin* and *Termopsis Lanceolata* SSP. *Sibirica* (Fabaceae) in the conditions of introduction]. *Himiya rastitel'nogo syr'ya*, 4, 181–186. [in Russian].
17. Petruczynic, A. (2012) Analysis of alkaloids from different chemical groups by different liquid chromatography methods. *Cent. Eur. J. Chem.*, 10(3), 802–835. doi: 10.2478/s11532-012-0037-y.
18. Artukhov, A. I., Yakovenko, T. V., Afonina, E. V., Troshina, L. V. (2012) *Kolichestvennoe opredelenie alkaloidov v lyupine* [Quantitative determination of alkaloids in lupine]. Bryansk. [in Russian].

Відомості про авторів:

Блажеєвський М. Є., д. хім. н., професор каф. фізичної та колоїдної хімії, Національний фармацевтичний університет.
Кучер М. М., к. фарм. н., доцент каф. токсикологічної та аналітичної хімії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького.
Дядченко В. В., к. хім. н., провідний науковий співробітник науково-дослідної лабораторії гвардійського ордену Червоної Зірки факультету військової підготовки імені Верховної Ради України НТУ «Харківський політехнічний інститут».
Юрченко І. О., к. фарм. н., доцент каф. фізикоїдної хімії, Запорізький державний медичний університет.

Сведения об авторах:

Блажеевский М. Е., д. хим. н., профессор каф. физической и коллоидной химии, Национальный фармацевтический университет.
Кучер М. М., к. фарм. н., доцент каф. токсикологической и аналитической химии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого.
Дядченко В. В., к. хим. н., ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гвардейского ордена Красной Звезды факультета военной подготовки имени Верховной Рады Украины НТУ «Харьковский политехнический институт».
Юрченко И. А., к. фарм. н., доцент каф. физикоїдної хімії, Запорізький державний медичний університет.

Information about authors:

Blazheyskyuy M. E., MD, PhD, DSc, Professor of Physical and Colloid Chemistry Department, National Pharmaceutical University, Kharkiv.
Kucher M. M., PhD, Associate Professor, of Toxicological and Analytical Chemistry Department, Lviv National Medical University named after Danylo Galitsky.
Dyadchenko V. V., PhD, Leading Researcher of Research Laboratory of Military Training Faculty of NTU «KhPI», Kharkiv.
Yurchenko I. O., PhD, Associate Professor, Department of Physical and Colloid Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University.