

Porovnanie presnosti niektorých metód stanovenia alkaloidov elektroforézou a chromatografiou na papieri*

M. ŠARŠŮNOVÁ, J. MENKYNŮVÁ

Krajské kontrolné laboratórium KÚNZ, Bratislava

Na stanovenie strychnínu a brucínu v zmesi sa v literatúre uvádzajú viaceré metódy. Voľba vhodného postupu závisí predovšetkým od požadovanej presnosti a samozrejme i od vybavenia laboratória.

V predchádzajúcich prácach [1, 2] sme opísali analýzu strychnínu a brucínu v zmesiach a v galenických prípravkoch za použitia elektroforézy a chromatografie na papieri. Množstvo obidvoch alkaloidov sme vyhodnocovali buď podľa záznamov reflexného fotometra po farebnej detekcii, alebo rádiometrickým meraním po detekcii činidlom obsahujúcim $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$. Obidve metódy poskytovali výsledky dostatočne presné, pričom presnejšie výsledky sa dosiahli pri druhej metóde. Tieto postupy však vyžadujú špeciálne zariadenie, ktoré bežné kontrolné laboratória nemajú.

Najjednoduchšou metódou na vyhodnocovanie škvrn látok na chromatogramoch a elektroforeogramoch je meranie ich plochy priamo na vláknach papiera, na čo stačí použiť bežný polárny planimeter. Preskúšali sme preto presnosť tejto metódy a porovnali sme ju s presnosťou predtým vypracovaných postupov [1, 2].

Experimentálna časť

Chemikálie, úprava vzoriek, roztoky a zariadenia boli rovnaké ako v práci [1, 2]. Pracovný postup pre chromatografické oddeľovanie [1], ako aj pre elektroforézu na papieri [2] sme už opísali. Kvantitatívne vyhodnocovanie sa robilo rádiometricky a fotometricky [1, 2] podľa zistených kalibračných závislostí. Priamková závislosť medzi koncentráciou stanovovaných látok a rádioaktivitou ich adičných produktov s kyselinou fosfomolybdénovou bola v rozmedzí 10—60 μg , pre fotometrické stanovenie v odrazenom svetle fotometrom podľa J. Fellegiho a L. Slámu [3] v rozmedzí 13—30 μg .

V rovnakom rozmedzí koncentrácie bola lineárna závislosť pri planimetrickom vyhodnocovaní po detekcii rovnakými postupmi ako pri reflexnej fotometrii priamym opakovaným meraním veľkosti škvrn na vláknach papiera.

V tab. 1 a 2 sú uvedené výsledky rádiometrického vyhodnotenia elektroforeticky a chromatograficky analyzovanej strychnovej tinktúry a výťažku. Takto získané hodnoty sa porovnali jednak s celkovým obsahom alkaloidov stanoveným po ich izolácii vytrepáním do organických rozpúšťadiel acidimetricky, jednak s množstvom brucínu stanoveným polarograficky podľa G. Dušinského [4]. Ako vidieť, neboli markantnejšie rozdiely

* Prednesené na Seminári o kvantitatívnych metódach v chromatografii na papieri v Bratislave 25. apríla 1963.

Tabuľka 1

Porovnanie presnosti výsledkov stanovenia strychnínu a brucínu rozličnými metódami
Brucín

Číslo	Prípravok	Celkový obsah alkaloidov (%)	% brucínu stanovené polarograficky	Ideálne množstvo brucínu (μg)	Rádiometricky stanovené množstvo brucínu po chromatogra- fickom oddelení (μg)	Rozdiel (%)		v (%)	Rádiometricky stanovené množstvo brucínu po elektroforet- ickom oddelení (μg)	Rozdiel (%)		v (%)
1a	<i>T. strychni</i>	0,266	51,2	13,6	12,9	—5,15			12,7	—6,62		
1b	<i>T. strychni</i>	0,266	51,2	27,2	26,4	—2,94	0,15	1,1	26,3	—3,31	0,19	1,45
1c	<i>T. strychni</i>	0,266	51,2	40,8	39,2	—3,92			40,1	—1,61		
2a	<i>T. strychni</i>	0,254	50,5	19,2	18,3	—4,70			18,1	—5,69		
2b	<i>T. strychni</i>	0,254	50,5	38,4	37,6	—2,08	0,37	2,01	37,7	—1,82	0,156	0,85
2c	<i>T. strychni</i>	0,254	50,5	57,6	54,3	—5,63			54,3	—5,63		
3a	<i>E. strychni</i>	15,7	49,1	15,4	14,3	—4,6			14,5	—5,85		
3b	<i>E. strychni</i>	15,7	49,1	23,1	22,4	—3,0	0,12	0,84	22,3	—3,47	0,211	1,44
3c	<i>E. strychni</i>	15,7	49,1	30,8	29,2	—5,2			29,0	—3,65		
4a	<i>E. strychni</i>	16,1	50,3	16,2	15,5	—6,1			15,8	—2,63		
4b	<i>E. strychni</i>	16,1	50,3	24,3	23,4	—3,7	0,025	0,164	23,6	—2,88	0,217	1,45
4c	<i>E. strychni</i>	16,1	50,3	32,4	31,3	—3,4			31,1	—4,01		
5a	zmes strych- ninu a bru- cínu à 20 μg	—	—	20	19,3	—3,5			19,4	—3,00		
5b	zmes strych- ninu a bru- cínu à 25 μg	—	—	25	24,2	—3,2	0,05	0,55	23,8	—4,80	0,14	0,47

s = smerodajná odchýlka (μg); v (%) = variačný koeficient.

Tabuľka 2
Porovnanie presnosti výsledkov stanovenia strychnínu a brucínu rozličnými metódami
Strychnín

Číslo	Přípravok	Celkový obsah alkaloidov (%)	% strychnínu	Ideálne množstvo strychnínu (μg)	Rádiometricky stanovené množ- stvo strychnínu po chromatogra- fickom oddelení (μg)	Rozdiel (%)		v (%)	Rádiometricky stanovené množ- stvo strychnínu po elektroforetickom oddelení (μg)	Rozdiel (%)		v (%)
1a	<i>T. strychni</i>	0,266	48,8	12,98	11,9	—7,75			12,0	—7,55		
1b	<i>T. strychni</i>	0,266	48,8	25,9	24,9	—3,86	0,27	2,2	24,7	—4,63	0,17	1,08
1c	<i>T. strychni</i>	0,266	48,8	38,9	36,4	—4,25			36,2	—6,94		
2a	<i>T. strychni</i>	0,254	49,5	18,9	17,7	—6,35			17,9	—5,30		
2b	<i>T. strychni</i>	0,254	49,5	37,7	35,2	—6,88	0,14	0,79	35,1	—7,14	0,20	1,14
2c	<i>T. strychni</i>	0,254	49,5	56,7	52,9	—6,70			52,6	—0,57		
3a	<i>E. strychni</i>	15,7	50,9	15,0	14,2	—5,35			14,5	—3,33		
3b	<i>E. strychni</i>	15,7	50,9	24,0	23,0	—4,17	0,12	0,76	23,1	—3,75	0,25	1,76
3c	<i>E. strychni</i>	15,7	50,9	30,0	28,9	—3,67			28,3	—5,80		
4a	<i>E. strychni</i>	16,1	49,7	15,9	14,8	—6,90			14,6	—8,18		
4b	<i>E. strychni</i>	16,1	49,7	23,85	22,3	—6,50	0,075	0,50	22,2	—6,92	0,04	0,25
4c	<i>E. strychni</i>	16,1	49,7	31,8	29,9	—5,98			29,6	—6,92		
5a	zmes strych- nínu a bru- cínu à 20 μg	—	—	20,0	19,4	—3,0	0,07	0,73	19,2	—4,0		
5b	zmes strych- nínu a bru- cínu à 25 μg	—	—	25,0	23,9	—4,4			23,6	—5,6	0,015	0,16

s = smerodajná odchýlka (μg); v (%) = variačný koeficient.

Tabuľka 3

Porovnanie presnosti výsledkov stanovenia strychnínu a brucínu rozličnými metódami
Brucín

Číslo	Prípravok	Celkový obsah alkaloïdov (%)	% brucínu stano- vené polarograficky	Ideálne nanesené množstvo brucínu (μg)	Množstvo brucínu stanovené fotome- tricky v odraze- nom svetle po elektroforetickom oddelení (μg)	Rozdiel (%)		<i>v</i> (%)	Množstvo brucínu stanovené plani- metricky po elek- troforetickom oddelení (μg)	Rozdiel (%)		<i>v</i> (%)
1	<i>T. strychni</i>	0,264	49,9	13,17	13,25	+ 1,5	—	—	13,0	—7,7		
2a	<i>T. strychni</i>	0,251	45,2	11,34	12,25	+ 8,0			11,75	+ 3,1		
2b	<i>T. strychni</i>	0,251	45,2	17,02	16,00	— 5,99	0,266	2,33	17,00	+ 8,7	1,17	10,3
2c	<i>T. strychni</i>	0,251	45,2	28,35	27,75	— 2,12			28,30	—0,18		
3	<i>T. strychni</i>	0,252	49,6	16,69	15,00	—10,3	—	—	16,00	—4,19	—	—
4	<i>E. strychni</i>	16,52	52,95	17,46	19,50	+ 10,3	—	—	18,50	+ 8,4	—	—
5	zmes strych- nínu a bru- cínu à 20 μg	—	—	19,98	19,50	— 2,37	—	—	21,0	+ 5,1		
6	zmes strych- nínu a bru- cínu à 25 μg	—	—	25,00	22,70	— 9,21	—	—	25,0	±0,0	0,2	

s = smerodajná odchýľka (μg); *v* (%) = variačný koeficient.

Tabuľka 4
Porovnanie presnosti výsledkov stanovenia strychnínu a brucínu rozličnými metódami
Strychnín

Číslo	Prípravok	Celkový obsah alkaloidov (%)	% strychnínu	Ideálne nanesené množstvo strychnínu (μg)	Množstvo strychnínu stanovené fotometricky v odrazenom svetle po elektroforetickom oddelení (μg)	Rozdiel (%)		v (%)	Množstvo strychnínu stanovené planimetricky po elektroforetickom oddelení (μg)	Rozdiel (%)		v (%)
1	<i>T. strychni</i>	0,264	50,1	13,22	14,55	+9,6			13,25	+ 0,2		
2a	<i>T. strychni</i>	0,251	54,8	13,86	14,25	+2,8			12,5	—10,64		
2b	<i>T. strychni</i>	0,251	54,8	20,62	21,00	+1,8	0,74	5,9	19,0	— 7,8	0,96	8,6
2c	<i>T. strychni</i>	0,251	54,8	27,42	29,25	+5,5			29,0	+ 2,7		
3	<i>T. strychni</i>	0,252	50,4	19,01	19,37	+2,0			18,0	— 5,39		
4	<i>E. strychni</i>	16,52	47,05	15,54	16,25	+4,5			16,4	+ 5,6		
5	zmes strychnínu a brucínu à 20 μg			20,12	22,01	+9,8			19,9	— 1,1		
6	zmes strychnínu a brucínu à 25 μg			25,00	23,70	—5,2			24,02	— 3,92		

s = smerodajná odchýlka (μg); v (%) = variačný koeficient.

v presnosti stanovení obidvoch látok postupom elektroforézy alebo chromatografie na papieri. Z výsledkov v tab. 1 a 2 vyplýva, že pri elektroforetickom oddeľovaní strychnínu a brucínu v galenických prípravkoch sa dosahuje približne rovnaká presnosť stanovenia ako pri chromatografii na papieri.

V druhej časti práce sa postupne vyskúšali metódy kvantitatívneho vyhodnotenia elektroforetických oddelených látok na zvolených prípravkoch strychnínu a brucínu v zmesiach, v tinktúre a vo výťažku fotometricky v odrazenom svetle a planimetricky. Výsledky získané obidvoma metódami sa porovnali.

Pri kvantitatívnom vyhodnocovaní izolovaných škvrn látok *in situ* fotometricky v odrazenom svetle sa dosahuje značná presnosť najmä čo do rozptylu chýb paralelne analyzovaných vzoriek tej istej vsádzky. Avšak vzhľadom na nenáročnosť zariadenia, pomerne veľmi jednoduchú manipuláciu a oniečo väčšiu chybu v stanoveniach možno na tieto účely použiť i planimetrické vyhodnotenie (tab. 3, 4).

Z preskúmaných metód kvantitatívneho vyhodnocovania najpresnejšie bolo rádiometrické stanovenie izolovaných škvrn analyzovaných zložiek liečiv.

Záver

V tejto práci sa porovnala presnosť stanovenia alkaloidov v preparátoch strychnínu a brucínu metódou elektroforézy a chromatografie na papieri. Elektroforeogramy a chromatogramy sa vyhodnocovali *in situ* fotometriou v odrazenom svetle, priamou planimetriou škvrn a rádiometricky po detekcii činidlom obsahujúcim ^{32}P .

O výsledkoch sa diskutuje z hľadiska použiteľnosti týchto metód na analýzu liečiv.

Súhrn

Overovala sa vhodnosť stanovenia strychnínu a brucínu na zvolených prípravkoch strychnovej tinktúry a výťažku pomocou elektroforézy a chromatografie na papieri nasledujúcim rádiometrickým vyhodnotením.

Porovnala sa presnosť kvantitatívnej fotometrie v odrazenom svetle a planimetrického vyhodnocovania tých istých galenických prípravkov a zmesi.

Experimentálne sa dokázalo, že neboli markantné rozdiely v presnosti stanovenia látok metódou elektroforézy a chromatografie na papieri.

Pri analytickom vyhodnotení rádiometrickým stanovením chromatograficky oddeleného strychnínu a brucínu sa v prípade strychnínu dosiahla presnosť $v = 0,50\text{--}2,2\%$, pri brucíne $v = 0,16\text{--}1,76\%$.

Pri rádiometrickom vyhodnotení elektroforeogramov obidvoch alkaloidov bola presnosť kvantitatívneho stanovenia strychnínu $v = 0,16\text{--}1,76\%$, brucínu $v = 0,47\text{--}1,45\%$.

Presnosť stanovenia strychnínu po elektroforetickom oddelení reflexnou fotometriou bola $v = 5,9\%$, brucínu $v = 2,33\%$. Pri planimetrickom vyhodno-

tení elektroforeogramov strychnínu bola presnosť $v = 8,6 \%$, brucínu $v = 10,3 \%$.

Z metód kvantitatívneho vyhodnocovania elektroforeticky oddelených látok na vláknach papiera najpresnejšie bolo rádiometrické stanovenie izolovaných zložiek liečiv.

СРАВНЕНИЕ ТОЧНОСТИ НЕКОТОРЫХ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛКАЛОИДОВ ЭЛЕКТРОФОРЕЗОМ И ХРОМАТОГРАФИЕЙ НА БУМАГЕ

М. Шаршунова, Я. Менкинова

Областная контрольная лаборатория ОИЗ, Братислава

Проверялась применимость определения стрихнина и бруцина в некоторых препаратах стрихниновой тинктуры и экстракта с помощью электрофореза и хроматографии на бумаге с последующей радиометрической оценкой.

Сравнивалась точность количественной фотометрии в отраженном свете и планиметрической оценки тех же самых лекарственных веществ и их смесей.

Экспериментом доказано, что при определении веществ методом электрофореза и хроматографии на бумаге нет значительной разницы в точности определения.

При аналитической радиометрической оценке хроматографически разделенного стрихнина и бруцина была достигнута точность в случае стрихнина $v = 0,50—2,2 \%$, для бруцина $v = 0,16—1,76 \%$.

При радиометрической оценке электроforeграмов обоих алкалоидов точность количественного определения стрихнина $v = 0,16—1,76 \%$, бруцина $v = 0,47—1,45 \%$.

Точность определения стрихнина после электрофоретического разделения с помощью фотометрии отражения была $v = 5,9 \%$, для бруцина $v = 2,33 \%$. При планиметрической оценке электроforeграмм точность для стрихнина $v = 8,6 \%$, бруцина $v = 10,3 \%$.

Из методов количественной оценки электрофоретически разделенных веществ на волокнах бумаги наиболее точным оказалось радиометрическое определение выделенных составных компонентов лекарств.

VERGLEICH DER GENAUIGKEIT EINIGER METHODEN DER BESTIMMUNG VON ALKALOIDEN MITTELS ELEKTROPHORESE UND CHROMATOGRAPHIE AUF PAPIER

M. Šaršúňová, J. Menkynová

Kreiskontrolllaboratorium KÚNZ, Bratislava

Die Eignung der Strychnin- und Brucinbestimmung in gewählten Präparaten der Strychnostinktur und des Extraktes mittels Chromatographie und Elektrophorese auf Papier wurde durch nachfolgende radiometrische Auswertung geprüft.

Es wurde die Genauigkeit der quantitativen Reflexionsphotometrie und der planimetrischen Auswertung derselben galenischen Präparate und Gemische verglichen.

Experimentell konnte festgestellt werden, dass in der Bestimmungsgenauigkeit der elektrophoretischen und chromatographischen Methode markante Unterschiede nicht auftreten.

Bei der durch radiometrische Bestimmung erfolgten analytischen Auswertung des chromatographisch getrennten Strychnins und Brucins wurde im Falle von Strychnin die Genauigkeit $v = 0,50\text{--}2,2\%$ und im Falle von Brucin $v = 0,16\text{--}1,76\%$ erreicht.

Bei der radiometrischen Auswertung von Elektroforeogrammen beider Alkaloide betrug die Genauigkeit der quantitativen Strychninbestimmung den Wert $v = 0,16$ bis $1,76\%$ und der Brucinbestimmung $v = 0,47\text{--}1,45\%$.

Die Genauigkeit der nach elektrophoretischer Trennung mittels Reflexionsphotometrie erfolgten Strychninbestimmung betrug $v = 5,9\%$, bei der Brucinbestimmung $v = 2,33\%$. Bei plamimetrischer Auswertung der Elektroforeogramme des Strychnins war die Genauigkeit $v = 8,6\%$, bei Brucin $v = 10,3\%$.

Die radiometrische Bestimmung von isolierten Arzneimittelkomponenten war die genaueste von den Methoden der elektrophoretisch auf Papier getrennten Substanzen.

LITERATÚRA

1. Šaršúnová M., Tölgyessy J., Majer J., *Českoslov. farm.* **9**, 339 (1960).
2. Šaršúnová M., Menkynová J., Fellegi J., *Pharm. Zhalle* **101**, 325 (1962).
3. Fellegi J., Sláma L., *Chem. zvesti* **10**, 314 (1956).
4. Dušínský G., *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **16**, Fasc. 3, 351 (1958).

Do redakcie došlo 28. 4. 1963

Adresa autorov:

RNDr. PhMr. Magda Šaršúnová, C. Sc., PhMr. Jana Menkynová, Krajské kontrolné laboratórium KÚNZ, Bratislava, Vazovova 34.