



УДК 543.544.5.068.7:543.054

## Экстракционно-хроматографическое определение содержания синэстрола в лекарственной форме

Рудакова Л.В.

*Воронежская государственная медицинская академия, Воронеж*

Фан Винь Тхинь, Подолина Е.А., Рудаков О.Б.

*Воронежский государственный архитектурно-строительный университет, Воронеж*

Поступила 10.12.2008 г.

### Аннотация

Изучена экстракция лекарственного препарата синэстрола из растворов в растительных маслах. Разработана экстракционно-хроматографическая методика контроля качества и содержания препарата с применением микроколоночной ВЭЖХ

**Ключевые слова:** жидкостная экстракция, лекарственные препараты, синэстрол (utrcctnhjk), микроколоночная ВЭЖХ

Extraction of synoestrolum (hexestrol), medicine with phenolic structure, from solution in vegetable oil was studied. Content of the medicine was established by microcolumn HPLC in optimized conditions.

**Key words:** liquid extraction, medicine, synoestrolum (hexestrol), microcolumn HPLC

### Введение

Синэстрол (Synoestrolum) или 4,4'-(1,2-диэтил-1,2-этандиил)бисфенол (рис. 1) — синтетический эстрогенный препарат фенольного строения, производное стильбена. Синэстрол оказывает специфическое лечебное действие: активизирует процессы пролиферации эндометрия, стимулирует развитие матки и вторичных женских половых признаков при их недоразвитии, смягчает и устраняет общие расстройства, возникающие в организме женщины на почве недостаточной функции половых желез в климактерическом периоде или после гинекологических операций. Выпускают в формах таблеток по 1 мг или растворов 0,1 % (1 мг в ампулах объемом 1 мл) и 2 % (20 мг в ампулах объемом 1 мл) в растительных маслах (оливковых, персиковых и т.д.) [1].

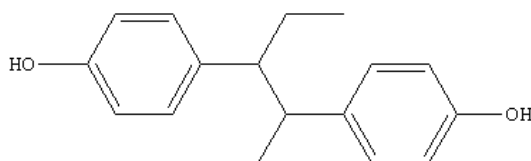


Рис. 1. Структурное строение синэстрола

Синэстрол обычно хорошо переносится. При приёме больших доз возможно токсическое повреждение печени, чрезмерная пролиферация эндометрия и кровотечения у женщин, выраженная феминизация у мужчин (понижение половой функции, набухание молочных желез, пигментация сосков, уменьшение размеров яичек и т.д.).

Синэстрол не растворим в воде, слабо растворяется в липидах, легко в спиртах, т.е. обладает умеренно гидрофобными свойствами. Расчётные значения критериев гидрофобности Ганча-Лео  $\log P = 5,26$ , а  $C\log P = 5,11$ . Для данных структур удобным методом контроля является жидкостнохроматографическое определение со спектрофотометрическим детектированием, так как эти соединения малолетучи и интенсивно поглощают в УФ-области (рис. 2) [2].

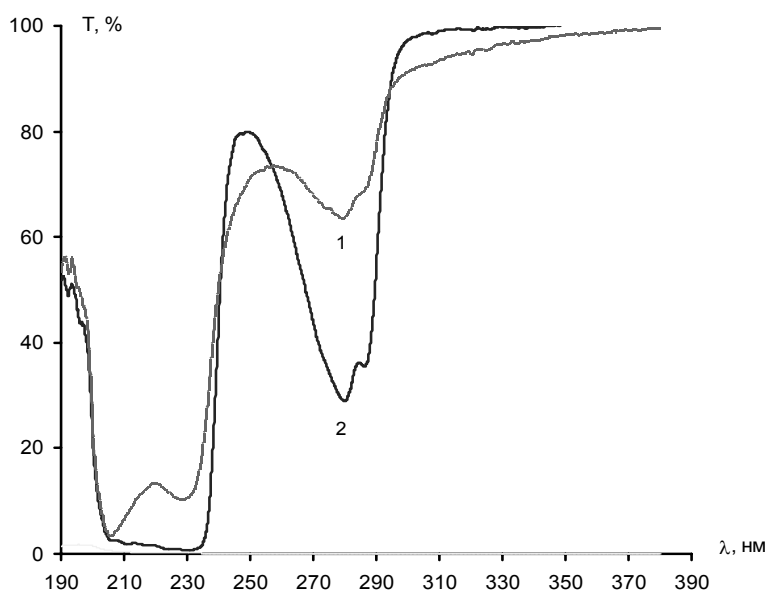


Рис. 2. Спектр поглощения в УФ-области 2-х образцов синэстрола, приобретенных в аптечной сети (200-кратное разбавление в ацетонитриле): 1 – образец 0,1% раствора в персиковом масле; 2 – образец 0,1% раствора в растительном масле без указания происхождения

Однако фенольные соединения сложно контролировать в лекарственных формах, в которых растворителями являются растительные масла. Растворы в маслах нецелесообразно без предварительной обработки вводить в хроматографическую систему даже в режиме нормально-фазовой хроматографии, так как триглицериды плохо вымываются из колонки и линий хроматографа даже малополярными подвижными фазами, а в обращенно-фазовых системах проблемы элюирования усугубляются плохой растворимостью гидрофобных соединений в относительно высокополярной подвижной фазе при высоком химическом сродстве триглицеридов к октадецильной привитой фазе сорбента.

Поэтому для разработки метода контроля с применением ВЭЖХ синэстрола в масляных лекарственных формах актуальна разработка метода выделения синэстрола из масляной фазы. Одним из возможных подходов для решения данной проблемы является двойная экстракция с применением на одной из стадий выщелачивания. Этот подход ранее был успешно использован при выделении капсаициноидов и ионола из слоя латекса, нанесенного на тканевую основу в перцовых пластырях [3], а также при выделении ионола из растительных [4] и трансформаторных масел [5].

Целью данной работы было исследование возможностей количественного извлечения синэстрола из масляной фазы лекарственной формы методом жидкостно-жидкостной экстракции и разработка усовершенствованной методики контроля количества и качества синэстрола методом микроколоночной ВЭЖХ.

## Эксперимент

УФ–спектры лекарственных форм регистрировали на спектрофотометре СФ-2000. Методика пробоподготовки заключалась в следующем: к 10 мл анализируемого масла добавляли 10 мл водно-изопропанольного раствора аммиака ~ 7 моль/л и перемешивали на вибросмесителе в течение 15 мин. Затем полученную эмульсию центрифугировали в течение 5 мин, верхнюю изопропанольную фазу отделяли и помещали в мерный цилиндр вместимостью 50 мл, приливали 10 мл бидистиллированной воды, подкисляли серной кислотой до рН ~ 2-3 и добавляли 7,5 г сульфата аммония. Вновь полученную смесь выдерживали на вибросмесителе в течение 15 мин, а после расслоения верхний слой отбирали и проводили анализ на хроматографе “Милихром-5” с УФ-детектором методом обращённо-фазовой ВЭЖХ в изократическом режиме: микроколонока размером 2×80 мм, заполненная сорбентом Диасорб 130С16, размер частиц 7 мкм, аналитическая длина волны 280 нм, подвижная фаза вода – ацетонитрил (1:4), расход подвижной фазы 120 мкл/мин, объем вводимой пробы 2 мкл.

## Обсуждение результатов

Для определения оптимальной длины волны для регистрации аналитического сигнала получили УФ-спектры (например, рис.2). Найдено, что максимум поглощения растворов синэстрола на 6-10 нм смещен в длинноволновую область спектра (280 нм), по сравнению с одноядерными алкилфенолами (270-274 нм). Время удерживания синэстрола в условиях анализа методом микроколоночной ВЭЖХ, оптимальных для ионола, меньше по сравнению с временем удерживания последнего: 2,5 мин и 5,5 мин, соответственно. И это не смотря на то, что синэстрол превосходит ионол по молекулярной массе и гидрофобности. Этот артефакт можно объяснить симметричным строением молекул синэстрола, затрудняющим его контакт с гидрофобной «щёткой» сорбента в процессе обращено-фазового хроматографирования. Вместе с тем, из-за отсутствия примесей низших фенолов, мешающих определению синэстрола в лекарственной форме, методика экстракционно-хроматографического определения ионола с незначительной адаптацией применима для решения аналитической задачи контроля синэстрола в масляных растворах.

На рис. 3 представлена схема разработанной экстракционно-хроматографической методики. Правильность определения проверена методом «введено-найдено». Предел обнаружения синэстрола – 0,02 мг/л, относительная погрешность определения – не более 5 %.

Методика испытана на 2 реальных образцах лекарственной формы — 0,1%-го раствора синэстрола в растительном масле разных производителей, приобретённых через аптечную сеть (рис. 3). Результаты этого анализа позволяют заключить, что в 1-м образце имеется неидентифицированная примесь, предположительно антиоксиданта фенольного типа ( $t_R = 4,0$  мин), который производители добавляют в

масла для предотвращения быстрой окислительной порчи, 2-й образец явно не качественный, содержание синэстрола ниже декларированного примерно в 3 раза, содержит примесь с  $t_R = 2,8$  мин. Данные УФ-спектрофотометрии хорошо согласуются с хроматографическими данными (рис.2). Преимущество ВЭЖХ по сравнению со спектрофотометрическим методом в повышении селективности определения, возможности определять синэстрол в присутствии высокогидрофобных антиоксидантов, таких как ионол, агидол-2 и др., времена удерживания которых в выбранных условиях заметно выше, чем у синэстрола [2-6].

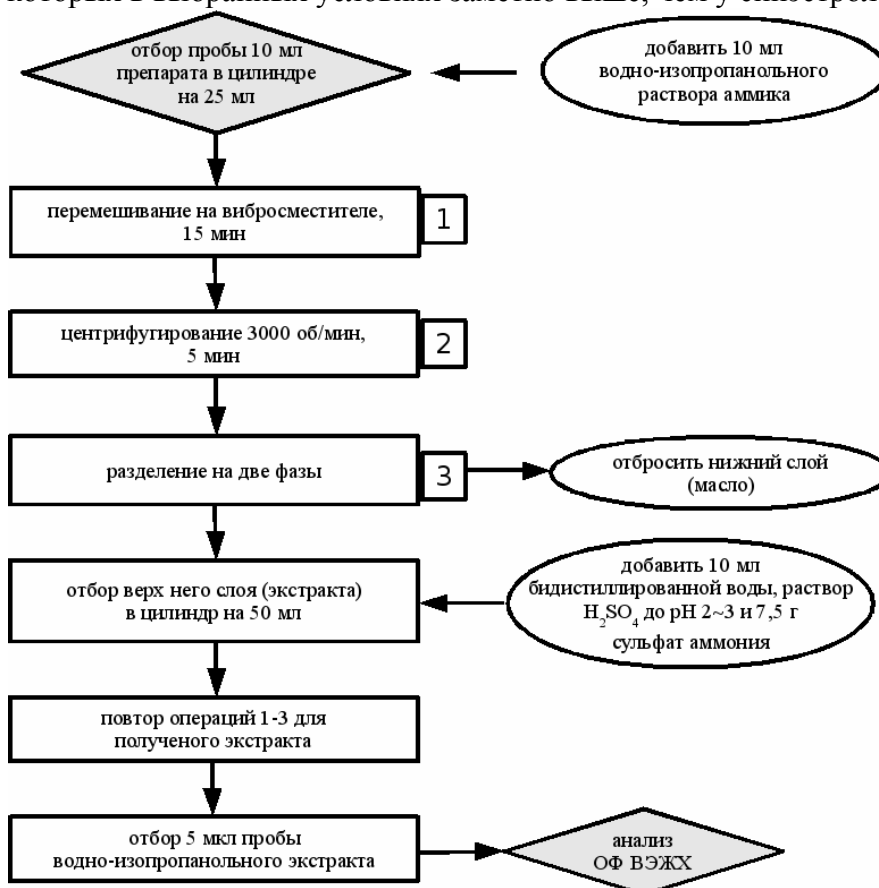


Рис. 3. Блок-схема методики экстракционно-хроматографического определения синэстрола в масляной лекарственной форме

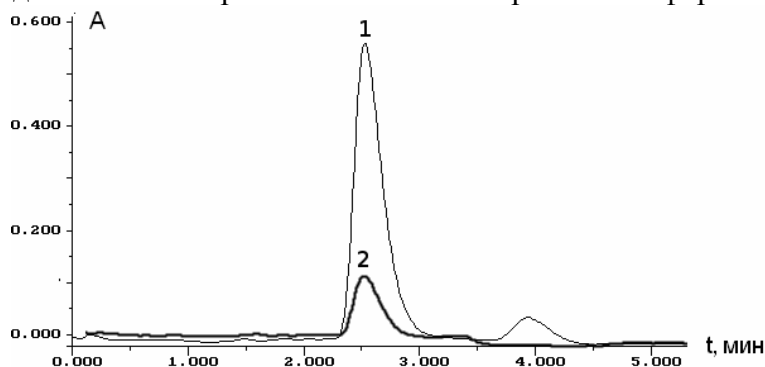


Рис. 3. Хроматограмма анализа экстракта синэстрола из 0,1%-го раствора в растительных маслах: 1 – раствор в персиковом масле; 2 – раствор в растительном масле без указания происхождения. Условия анализа приведены в экспериментальной части

## Заключение

Разработанная экстракционно-хроматографическая методика с применением экстракционной системы на основе изопропанола на стадиях пробоподготовки, включающей выщелачивание с последующим высаливанием, отличается универсальным характером при определении фенольных соединений в жидких гидрофобных матрицах. Она может быть рекомендована для проведения валидации в качестве методики контроля содержания синэстрола в масляной лекарственной форме.

## Список литературы

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В двух томах. - Т.2. - Харьков: Торсинг, 1998. - 592 с.
2. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В., Филлипов А.А., Селеменев В.Ф., Приданцев А.А. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. – Воронеж: Водолей. 2004. -528 с.
3. Рудаков О. Б., Хорохордина Е.А., Фан Винь Тхинь, Подолина Е.А., Рудакова Л.В. Определение капсаициноидов и ионола в перцовых пластырях методом микроколоночной ВЭЖХ // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2008. - Т.8. - Вып. 2. - С. 339-345.
4. Подолина Е.А., Рудаков О.Б., Хорохордина Е.А., Григорьев А.М. Определение ионола в присутствии низших фенолов в растительных маслах методом обращенно-фазовой ВЭЖХ // Журнал аналитической химии. - 2008. - Т.63. - № 6. - С. 599-602.
5. Рудаков О.Б., Фан Винь Тхинь, Подолина Е.А., Харитоновна Л.А. Применение микроколоночной ВЭЖХ для контроля ионола в трансформаторном масле // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2008. - Т.8. - Вып. 1. - С. 141-146.
6. Рудаков О.Б. Экспертная система для жидкостной хроматографии: принципы построения и применение в химическом анализе. Дисс. ...д-ра хим. наук. Воронеж, 2004, 400 с.

---

**Рудакова Людмила Васильевна** - к.х.н., доцент кафедры фармацевтической химии и клинической фармации Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, тел. (4732) 20-81-85

**Фан Винь Тхинь** - аспирант кафедры химии Воронежского архитектурно-строительного университета, Воронеж, тел. (4732) 36-93-50

**Подолина Елена Алексеевна** - к.х.н., доцент, докторант кафедры химии Воронежского архитектурно-строительного университета, Воронеж, тел. (4732) 36-93-50

**Рудаков Олег Борисович** - д.х.н., профессор, зав. кафедрой химии Воронежского архитектурно-строительного университета, Воронеж, тел. (4732) 36-93-50

**Rudakova Lyudmila V.** - k.kh.n., assistant professor of the chair of pharmaceutical chemistry and clinical pharmacy of Voronezh state medical academy, Voronezh, e-mail: [robi@vmail.ru](mailto:robi@vmail.ru)

**Fan Vin Thin** - graduate student of the chair of chemistry of Voronezh state university of architecture and civil engineering, Voronezh

**Podolina Elena A.** - k.kh.n., assistant professor of the chair of chemistry of Voronezh state university of architecture and civil engineering, Voronezh

**Rudakov Oleg B.** - d.kh.n., professor, head of the chair of chemistry of Voronezh state university of architecture and civil engineering, Voronezh