

Новаш Д.С.

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОФЕЙНОЙ И ХЛОРОГЕНОВОЙ КИСЛОТ

Научный руководитель: канд. фарм. наук, доц. Лукашов Р.И.

Кафедра фармацевтической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Актуальность. Многие лекарственные растения содержат в своем составе большое количество фенольных соединений, важное место среди которых занимают производные гидроксикоричных кислот. Родоначальником данной группы веществ является кофейная кислота. Остальные представители являются ее производными: феруловая, цикориевая, фертаровая, кафтаровая, хлорогеновая и др. Наибольший интерес для нас ввиду своей доступности, распространенности и широкого спектра фармакологической активности имеют кофейная и хлорогеновая кислоты. Они обладают высоким антиоксидантным потенциалом, активно применяются в косметологической практике. Основываясь на результатах наших исследований по изучению влияния гидроксикоричных кислот на фибробласты дермы человека, мы хотим изучить проникающую способность данной группы веществ (на примере кофейной и хлорогеновой кислот) через полупроницаемую мембрану и в кожу. Для этого необходима методика количественного определения данных веществ. Большинство современных статей рекомендуют их количественное определение проводить при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии. Несмотря на все преимущества данного метода, он является довольно дорогостоящим. В рутинном анализе образцов с несложной матрицей предпочтительнее использовать более дешевую и доступную спектрофотометрию.

Цель: разработать и валидировать методику количественного спектрофотометрического определения кофейной и хлорогеновой кислот.

Материалы и методы. В качестве испытуемых растворов использовали растворы кофейной и хлорогеновой кислот в фосфатно-солевом буфере (рН = 7,4). Метод количественного определения – прямая фотометрия при 312 нм для кофейной кислоты и 325 нм для хлорогеновой кислоты на спектрофотометре Solar PB2201. Обработку результатов осуществляли в компьютерной программе Microsoft Office Excel 2015.

Результаты и их обсуждение. Для валидации методики количественного определения необходимо подтвердить ее специфичность, линейность, правильность, повторяемость и промежуточную прецизионность в определенном диапазоне применения. При определении специфичности методики проверено отсутствие влияния на спектр поглощения раствора со стороны фосфатно-солевого буфера: внешний вид спектра, максимумы и минимумы поглощения не изменялись при замене растворителя на воду очищенную. Для установления линейности использовали 8 концентраций кислот: 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120 и 150 мкМ. Для кофейной кислоты получили следующие данные: $r = 0,9993$, $y = 0,0143x + 0,0147$, RSS (остаточная сумма квадратов) = 0,0051. Для хлорогеновой кислоты: $r = 0,9998$, $y = 0,0175x - 0,0251$, $RSS = 0,0029$. При проверке на повторяемость (по 3 определения для 3 концентраций (10, 80, 150 мкМ) дважды в течение дня в одинаковых условиях) и промежуточную прецизионность (в разные дни разными аналитиками) получены результаты, дисперсии которых для двух опытов значимо не отличаются ($F_{\text{экс}} < F_{\text{крит}}$). Правильность методики оценивали также для 3 определений при 3 концентрациях (10, 80 и 150 мкМ) и уровне значимости – 0,05. Величина открываемости для кофейной кислоты составляет $99,98 \pm 1,67\%$ ($t = 0,0277 < 2,31$), для хлорогеновой – $100,59 \pm 0,62\%$ ($t = 2,19 < 2,31$).

Выводы: разработанные методики количественного спектрофотометрического определения кофейной и хлорогеновой кислот в диапазоне концентраций 10-150 мкМ имеют приемлемую специфичность, линейность, правильность, прецизионность и пригодны для применения в аналитической практике.