

УДК 543.544

АНАЛИЗ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ПОМОЩИ МИКРОКОЛОНОЧНЫХ ХРОМАТОГРАФОВ СЕРИИ “МИЛИХРОМ”

Г.Б. Голубицкий*, В.М. Иванов

(кафедра аналитической химии)

На примере анализа некоторых двух-, трех- и пятикомпонентных лекарственных препаратов показаны возможности использования микроколоночных хроматографов серии “Милихром”. Доказано, что модификации приборов с одним шприцевым насосом можно успешно применять для анализа сложных смесей как в изократическом, так и в градиентном режимах. Разработанные методики, включенные в нормативно-техническую документацию, в течение нескольких лет применяли для контроля качества выпускаемых препаратов.

Микроколоночные хроматографы серии “Милихром” более 20 лет выпускает Орловский завод научных приборов. Наиболее широко используют в лабораториях разных отраслей промышленности хроматографы модификаций “Милихром 4” и “Милихром 5”. Удобство их применения определяется практически полной автоматизацией, простотой эксплуатации, относительно невысокими требованиями к качеству применяемых воды и органических растворителей и их небольшим расходом. В последние годы начат выпуск хроматографов “Милихром 5-3” и “Милихром 6”, наиболее характерным отличием которых от приборов предшествующего поколения является наличие двух шприцевых насосов вместо одного. Эти приборы по своим характеристикам приблизились к современным зарубежным хроматографам. В отечественной литературе опубликовано много работ о применении хроматографов “Милихром” для анализа многокомпонентных лекарственных препаратов, например [1–7]. В табл. 1 приведены некоторые характеристики этих методик. На наш взгляд, даже эта сравнительно небольшая выборка работ отражает некоторые тенденции в использовании хроматографов “Милихром”. Большинство работ основано на методах обращенно-фазовой ВЭЖХ [1–5, 7], значительно реже описано применение нормально-фазовой хроматографии [6]. Чаще всего разделение осуществляют в изократическом режиме [1–6], градиентное элюирование применяют относительно редко [7]. Если первая из указанных тенденций характерна для работ с использованием ВЭЖХ в це-

лом, то вторая связана с техническими особенностями хроматографов “Милихром”, на которых осуществление градиентного элюирования затруднительно. Вместе с тем опыт авторов данной статьи показывает, что и на этих приборах возможно успешное разделение и количественный анализ сложных смесей веществ как в изократическом, так и в градиентном режимах. Изложение некоторых результатов этой работы – цель данной публикации.

Экспериментальная часть

Реагенты. Для приготовления подвижных фаз (ПФ), а также для растворения стандартных и испытуемых препаратов использовали ацетонитрил для хроматографии (“Криохром”, Россия) и бидистиллят. В качестве стандартов определяемых лекарственных веществ использовали фармацевтические субстанции, проверенные отделом контроля качества предприятия и соответствующие всем требованиям нормативной документации. Все остальные использованные реактивы имели квалификацию не ниже “ч.д.а.”

Аппаратура. Хроматографический анализ проводили на хроматографах “Милихром 4” и “Милихром 5”. Использовали колонки размером 80×2,0 мм, заполненные обращенно-фазовыми сорбентами “Сепарон SGX C18” и “Нуклеосил 100 C18” с размером частиц 7,0 мкм. С помощью рН-метра-милливольтметра “рН-673М” со стеклянным индикаторным электродом и хлоридсеребряным электродом сравнения контролировали рН буферных растворов для приготовления подвижных фаз.

*ОАО “Фармстандарт-Лексредства”, Курск

Т а б л и ц а 1

Характеристики некоторых методик анализа многокомпонентных лекарственных препаратов при помощи хроматографов “Милихром”

Препараты, вещества	Колонка	Подвижная фаза и ее расход	Длина волны, нм	Литература
Местные анестетики: новокаин, анестезин, папаверина гидрохлорид	64×2,0 мм “Сепарон С18”	CH ₃ CN:ФБ, pH 2,5, 0,1 мл/мин 60 : 40 80 : 20	290 290;260	[1]
Кортикостероиды в мазях: преднизолон, синафлан, гидрокортизон	64×2,0 мм “Сепарон С18”	C ₂ H ₅ OH 0,05 мл/мин	240	[2]
Таблетки «Абергин»: 2-бром-α-эргокриптин мезилат; 2-бром-β-эргокриптин мезилат	64×2,0 мм “Silasorb C18” (5,0 мкм)	ТГФ:0,01M(NH ₄) ₂ HPO ₄ = 47:53 0,03 мл/мин	254	[3]
Пероральные контрацептивы: этинилэстрадиол, левоноргестрел	120×2,0 мм “SGX-RP-S-ODS” (8,0 мкм)	CH ₃ CN:H ₂ O = 3:2 0,15 мл/мин	220	[4]
Поливитаминные препараты: ретинола ацетат, эргокальциферол, α-токоферола ацетат	120×2,0 мм “Сепарон SGX” (5,0 мкм)	CH ₃ OH:H ₂ O = 99:1	326 264 286	[5]
Масляные растворы витаминов: А, Е, КЗ	64×2,0 мм “Силасорб 600” (5,0 мкм)	Гексан:диэтиловый эфир = 6:94	220 320	[6]
Многокомпонентная лекарственная форма: водорастворимые витамины, кальция пантотенат		CH ₃ OH:ФБ pH 7,0 (ступенчатый градиент)	210 260	[7]

Примечание. ФБ – фосфатный буферный раствор; ТГФ – тетрагидрофуран.

Т а б л и ц а 2

Порядок приготовления растворов для анализа некоторых лекарственных препаратов с помощью хроматографов типа “Милихром”

Препарат	Определяемые вещества	Масса навески, г (объем, мл)	Растворитель (объем 100 мл)
“Аскофен” таблетки	парацетамол, кофеин, аспирин	0,125	CH ₃ CN:H ₂ O:CH ₃ COOH = 30:67:3
“Пенталгин ICN” таблетки	парацетамол, анальгин, кофеин, кодеина фосфат, фенobarбитал	0,160	0,120 г Na ₂ SO ₃ в смеси CH ₃ CN:H ₂ O=15:85
“Нео-геофедрин” таблетки	парацетамол, теофиллин, кофеин, эфедрина гидрохлорид, фенobarбитал	0,160	CH ₃ CN:(0,025M K ₂ HPO ₄ ; pH 3,0) = 15:85
“Проходол форте” таблетки	парацетамол, кофеин, кодеина фосфат	0,160	CH ₃ CN:0,025M K ₂ HPO ₄ = 1:9
“Коделак-фито” сироп	кодеина фосфат, нипагин, нипазол	(5,0)	CH ₃ CN:H ₂ O = 3:7
“Кларисенс” сироп	лоратадин, нипагин, нипазол	(5,0)	CH ₃ CN:H ₂ O = 3:7
“Ко-тримоксазол” суспензия	триметоприм, сульфаметоксазол, нипагин, нипазол	2,5	CH ₃ CN:H ₂ O = 1:4

Порядок приготовления растворов для анализа некоторых препаратов указан в табл. 2.

Все растворы фильтровали через гидрофильный мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм (предпочтительны фторопластовые фильтры, устойчивые в водно-ацетонитрильных растворах).

Проведение анализа. Хроматографировали испытуемый раствор и раствор стандартного образца сравнения (РСО). Расход ПФ составил 0,15 мл/мин, объем инжектируемой пробы 5,0 мкл. Состав ПФ указан в табл. 3.

Результаты и их обсуждение

Общие особенности хроматографического разделения на хроматографе “Милихром”. Основным отличием хроматографического процесса на хроматографах “Милихром” является его периодичность. Если на стандартном приборе подвижная фаза течет через колонку непрерывно, то на “Милихроме” – только во время анализа. Этот недостаток приводит к ухудшению стабильности условий разделения и снижению точности количественных результатов. Для частичной компенсации такого негативного влияния в приборах предусмотрена регенерация – предварительная промывка колонки подвижной фазой в течение 1–2 мин до анализа, после чего инжектируют пробу.

Кроме этого, до и после набора пробы в иглу набирают по 5–10 мкл буферных объемов. Такой прием уменьшает влияние “реакции на ввод пробы”. При разделении в градиентном режиме есть дополнительная особенность, связанная с конструкцией прибора “Милихром”. При использовании изократического режима положение шприцевого насоса прибора не играет роли. Для градиента насос должен обязательно располагаться таким образом, чтобы поршень при вытеснении подвижной фазы двигался сверху вниз. Это связано с тем, что перед анализом в насос набираются все ступени подвижной фазы, причем ступени с большим содержанием органического модификатора, имеющие более низкую плотность, набираются в первую очередь. Эти ступени должны занимать в шприце насоса верхнее положение, что замедляет перемешивание растворителя. При нарушении этого правила провести градиентное элюирование при помощи такого прибора практически невозможно.

Результаты анализа. На рис. 1–2 для примера представлены хроматограммы испытуемых растворов, полученные при анализе некоторых многокомпонентных препаратов на хроматографе “Милихром 5”. Условия хроматографического разделения указаны в подписях к рисункам. И в изократическом, и в градиентном режимах получено четкое разделение и удов-

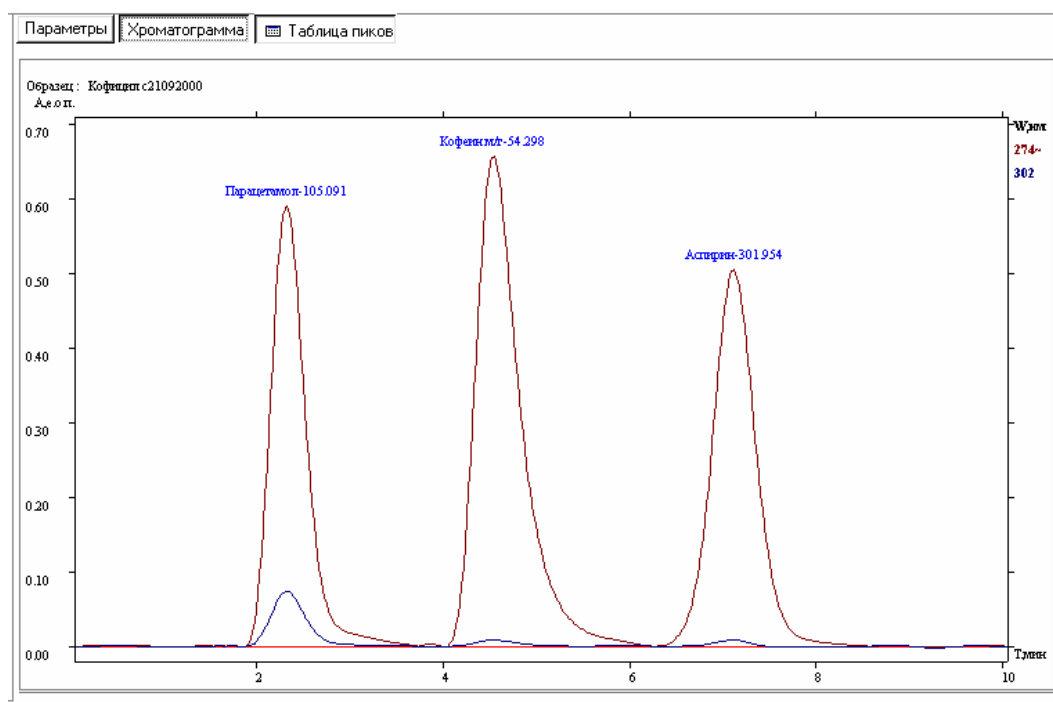


Рис. 1. Хроматограмма испытуемого раствора таблеток “Аскофен”. Колонка 2,0×80 мм, “Нуклеосил 100 C18” с размером частиц 7,0 мкм. ПФ – CH₃CN:H₂O:CH₃COOH = 30:67:3. Детектирование при 220 нм

Т а б л и ц а 3

Результаты анализа некоторых многокомпонентных лекарственных препаратов методом ВЭЖХ ($n = 9$; $P = 0,95$)

Препарат	Определяемые вещества	Норма по НД, г/табл (г/5 мл)	X_{cp}	s	S_{Xcp}	$\epsilon, \%$
“Аскофен” таблетки	парацетамол	0,190–0,210	0,19800	0,00150	0,00050	0,60
	кофеин	0,037–0,043	0,00395	0,00005	0,00002	1,00
	аспирин	0,190–0,210	0,20140	0,00210	0,00070	0,82
“Пенталгин ICN” таблетки	парацетамол	0,285–0,315	0,30210	0,00340	0,00113	0,89
	анальгин	0,285–0,315	0,29640	0,00260	0,00087	0,69
	кофеин	0,04625–0,05375	0,50120	0,00630	0,00210	0,99
	кодеина фосфат	0,0072–0,0088	0,00789	0,00009	0,00003	0,90
	фенобарбитал	0,009–0,011	0,09760	0,00180	0,00060	1,45
“Нео-теофедрин” таблетки	парацетамол	0,285–0,315	0,30230	0,00230	0,00077	0,60
	теофиллин	0,0925–0,1075	0,10120	0,00200	0,00067	1,55
	кофеин	0,04625–0,05375	0,05065	0,00070	0,00023	1,09
	эфедрина гидрохлорид	0,0185–0,0215	0,01940	0,00027	0,00009	1,09
	фенобарбитал	0,009–0,011	0,00986	0,00011	0,00004	0,88
“Проходол форте” таблетки	парацетамол	0,475–0,525	0,50340	0,00640	0,00213	1,00
	кофеин	0,04625–0,05375	0,05004	0,00064	0,00021	1,01
	кодеина фосфат	0,0072–0,0088	0,00786	0,00008	0,00003	0,80
“Коделак-фито” сироп	кодеина фосфат	(0,004–0,005)	0,00475	0,00006	0,00002	0,99
	нипагин	(0,0034–0,0041)	0,00370	0,00002	0,00001	0,43
	нипазол	(0,0011–0,0014)	0,00120	0,00002	0,00001	0,98
“Кларисенс” сироп	лоратадин	(0,0045–0,0055)	0,00486	0,00006	0,00002	0,97
	нипагин	(0,0013–0,0020)	0,00165	0,00002	0,00001	0,95
	нипазол	(0,00065–0,00100)	0,00084	0,00001	0,00000	0,94
“Ко-тримоксазол” суспензия	триметоприм	(0,036–0,044)	0,03950	0,00040	0,00013	0,80
	сульфаметоксазол	(0,180–0,220)	0,20250	0,00340	0,00113	1,32
	нипагин	(0,0012–0,0018)	0,00155	0,00002	0,00001	1,02
	нипазол	(0,000375–0,000675)	0,00050	0,00001	0,00000	1,59

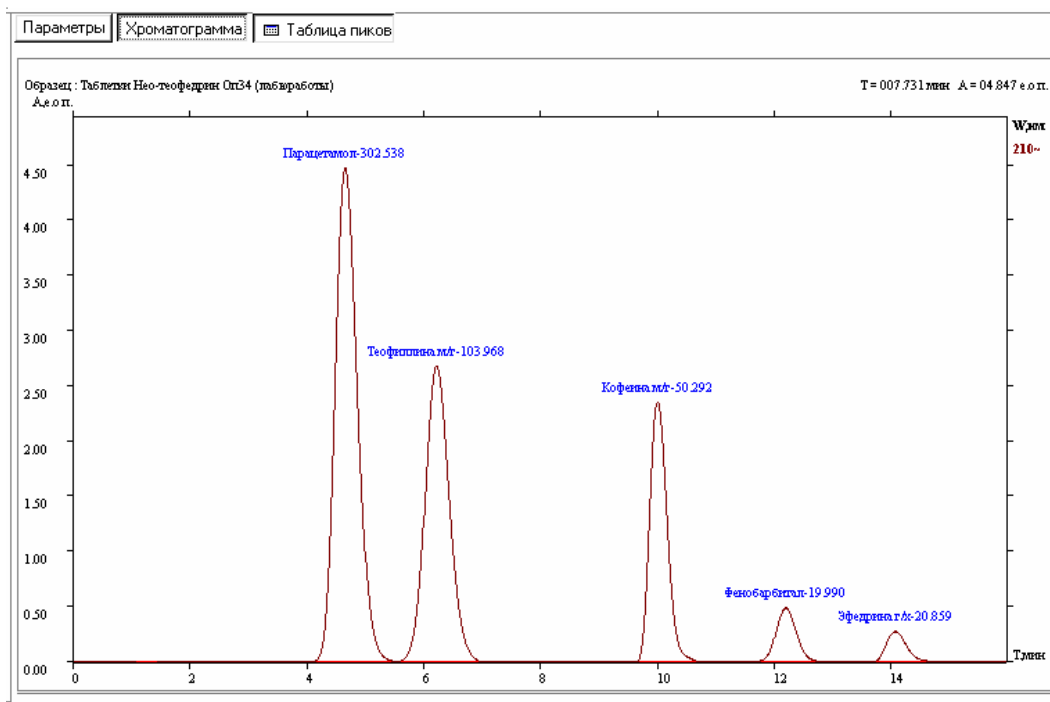


Рис. 2. Хроматограмма испытуемого раствора для анализа таблеток “Нео-теофедрин”. Колонка 2,0×80 мм “Сепарон SGX C18” с размером частиц 7,0 мкм. ПФ – ступенчатый градиент: $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} = 1 : 9$ (700 мкл) – $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} = 3 : 7$ (800 мкл) – $\text{CH}_3\text{CN} : 0,025\text{M KH}_2\text{PO}_4 = 3 : 2$ (800 мкл). Детектирование при 207 нм

летворительная форма пиков. Разработанные методики использованы для контроля опытно-экспериментальных образцов, приготовленных в лаборатории при

разработке технологии препаратов. Полученные результаты соответствовали технологическим нагрузкам (табл. 3).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лайпанов А.Х., Сланский В.Э. // Хим. фарм. журн. 1991. **25**. С. 75.
2. Гаврилин М.В., Компанцева Е.В., Ушакова Л.С. // Фармация. 1994. **43**. С. 64.
3. Комарова Е.Л., Пинеев С.А. // Хим.фарм.журн. 1995. **29**. С. 54.
4. Васяров Г.Г., Малахов В.Ю., Лифшиц И.В. // Фармация. 1994. **43**. С. 66.
5. Козлов Э.И., Солунина И.А., Любарева М.Л., Надточий М.А. // Хим. фарм. журн. 2003. **37**. С. 50.
6. Староверов В.М., Дейнека В.И., Кричовская Л.В. // Хим. фарм. журн. 1990. **24**. С. 85.
7. Малолеткина Т.С. // Пат. РФ 2134883. Бюлл. изобр. 1999. № 11. С. 199.

Поступила в редакцию 20.09.07

THE ANALYSIS OF SOME MULTICOMPONENT MEDICINALS USING MICROCOLUMN CHROMATOGRAPH OF “MILICHRON” SERIES

G.B. Golubitskii, V.M. Ivanov

(Division of Analytical Chemistry)

On an example of the analysis some two, three and five components of medicinal preparations the opportunities of use microcolumn chromatograph of a series “Milichrom” are shown. It is proved, that the updatings of devices with one shprice by the pump can successfully be applied to the analysis of complex(difficult) mixes both in isocratic, and in gradiend modes. The developed techniques included in the normative-engineering specifications, within several years applied to quality surveillance of let out preparations.