



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **93090** (13) **U**
(51) МПК
G01N 21/33 (2006.01)
G01N 30/36 (2006.01)
G01N 30/34 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2013 09315</p> <p>(22) Дата подання заявки: 25.07.2013</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.09.2014</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.09.2014, Бюл.№ 18</p>	<p>(72) Винахідник(и): Сиротчук Олександр Андрійович (UA), Маркін Роман Олексійович (UA), Дідух Ірина Романівна (UA), Зайцев Володимир Миколайович (UA), Гождзінський Сергій Мартинович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО "ЦЕНТРАЛЬНА ЛАБОРАТОРІЯ З АНАЛІЗУ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ТА МЕДИЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ", вул. Кудрявська, 10-Г, м. Київ, 04053 (UA)</p>
--	---

(54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ КОМПОНЕНТІВ У ПРЕПАРАТІ ПРОТИКАШЛЕВОЇ ДІЇ

(57) Реферат:

Спосіб кількісного визначення вмісту компонентів у препараті протикашлевої дії, що включає хроматографування розчину випробуваного препарату та розчину робочого стандартного зразка на рідинному хроматографі з ультрафіолетовим детектором і обернено-фазовою хроматографічною колонкою у режимі лінійного градієнта зміни складу рухомої фази, до складу якої входить ацетонітрил, одержання не менш трьох хроматограм для кожного досліджуваного розчину, розрахунок кількісного вмісту речовин, які визначають, за площами піків на хроматограмах випробуваного й стандартного розчинів, причому беруть хроматографічну колонку з силікагелем, що модифікований алкільними групами з полярною вставкою в ланцюзі, як рухому фазу додатково беруть 0,03-0,1 процентний розчин трифтороцтової кислоти у воді, причому в режимі лінійного градієнта склад рухомої фази змінюють від названого розчину трифтороцтової кислоти до його суміші з ацетонітрилом, а детектування здійснюють за довжини хвилі 280 нм.

UA 93090 U

Корисна модель належить до вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), а саме до способів визначення кількісного складу багатокомпонентних лікарських препаратів протикашлевої дії, і може бути використана у контрольно-аналітичних лабораторіях фармацевтичних підприємств та в аптечній мережі.

5 Відомий спосіб визначення кількісного складу багатокомпонентного лікарського препарату жарознижуючої, анагезуючої, протизастудної дії методом обернено-фазової ВЕРХ із ультрафіолетовим спектрофотометричним детектором і обернено-фазовою хроматографічною колонкою у режимі лінійного градієнта концентрації ацетонітрилу в рухомій фазі протягом аналізу з використанням як рухомої фази суміші ацетонітрилу з фосфатним буферним розчином (патент Російської Федерації № 2332663; МПК G01N 33/15 (2006.01), дата публікації 27.08.2008). При аналізі препарату, що містить анальгін, кофеїн, кодеїн, фенобарбітал і напроксен, фосфатний буферний розчин вводять в рухому фазу із самого початку аналізу, а його концентрація протягом усього аналізу постійна і дорівнює 0,004-0,008 моль/л. Технічним результатом є одностадійність способу із забезпеченням повного розділення піків кодеїну, кофеїну, анальгину та продукту його розкладання.

Причинами, що перешкоджають одержанню потрібного технічного результату, є використання у складі рухомої фази фосфатного буферного розчину, який може негативно впливати на властивості хроматографічної колонки.

20 Відомий спосіб визначення кількісного складу багатокомпонентного лікарського препарату методом обернено-фазової ВЕРХ із ультрафіолетовим спектрофотометричним детектором і обернено-фазовою хроматографічною колонкою у режимі лінійного градієнта концентрації ацетонітрилу в рухомій фазі протягом аналізу з використанням як рухомої фази суміші ацетонітрилу з фосфатним буферним розчином (патент Російської Федерації № 2330281, МПК G01N 33/15 (2006.01), G01N 30/36 (2006.01), дата публікації 27.07.2008). При аналізі препарату протизастудної, антиалергічної дії, що містить аскорбінову кислоту, парацетамол, феніраміну малеат і фенілефрину гідрохлорид, як розчинник проби використовують 0,1 %-ний розчин ортофосфорної кислоти з додаванням 5 об. % ацетонітрилу, а детектування ведуть при довжині хвилі 273 нм. Технічним результатом є: підвищення стабільності аскорбінової кислоти та повне розділення піків аскорбінової кислоти з піками допоміжних речовин.

30 Причинами, що перешкоджають одержанню потрібного технічного результату, є використання у складі рухомої фази фосфатного буферного розчину, який може негативно впливати на властивості хроматографічної колонки.

35 За прототип вибрано спосіб одночасного кількісного визначення складу багатокомпонентних лікарських препаратів методом обернено-фазової ВЕРХ за допомогою ультрафіолетового детектора (патент Російської Федерації № 2267115, МПК⁷ G01N 21/33, G01N 30/36, G01N 30/34, дата публікації 27.12.2005). За прототипом розчин випробуваного препарату й розчин робочого стандартного зразка (РСЗ) послідовно хроматографують на рідинному хроматографі з ультрафіолетовим (УФ) детектором і обернено-фазовою хроматографічною колонкою у режимі лінійного градієнта з використанням як рухомої фази суміші ацетонітрилу з фосфатним буферним розчином; суміші ацетонітрилу з водою; фосфатного буферного розчину; води. Одержують не менш трьох хроматограм для кожного досліджуваного розчину. За площами піків визначуваних речовин на хроматограмах випробуваного й стандартного розчинів розраховують кількісний вміст визначуваних компонентів в аналізованому препараті. При аналізі лікарських препаратів, що містять анальгін або неідентифіковані компоненти рослинної сировини, на початковому етапі градієнта вводять рухому фазу, що містить тільки ацетонітрил і воду, а фосфатний буферний розчин вводиться в рухому фазу після виходу всіх піків, крім кодеїну. Час, який потрібен для отримання однієї хроматограми, становить 21-26 хвилин.

45 Спільними ознаками зі способом, що заявляється, є хроматографування розчину випробуваного препарату й розчину робочого стандартного зразка (РСЗ) на рідинному хроматографі з ультрафіолетовим (УФ) детектором і обернено-фазовою хроматографічною колонкою у режимі лінійного градієнта зміни складу рухомої фази, одержання не менш трьох хроматограм для кожного досліджуваного розчину, розрахунок кількісного вмісту визначуваних речовин за площами піків на хроматограмах випробуваного й стандартного розчинів.

55 Причинами, що перешкоджають одержанню потрібного технічного результату, є надмірна витрата часу для отримання хроматограми.

В основу корисної моделі поставлена задача у способі кількісного визначення вмісту компонентів у препараті протикашлевої дії шляхом зміни реагентів та параметрів способу забезпечити скорочення часу для отримання хроматограми.

60 Поставлена задача вирішується тим, що у способі кількісного визначення вмісту компонентів у препараті протикашлевої дії, який включає хроматографування розчину випробуваного

препарату й розчину робочого стандартного зразка на рідинному хроматографі з ультрафіолетовим детектором і обернено-фазовою хроматографічною колонкою у режимі лінійного градієнта зміни складу рухомої фази, до складу якої входить ацетонітрил, одержання не менш трьох хроматограм для кожного досліджуваного розчину, розрахунок кількісного вмісту визначуваних речовин за площами піків на хроматограмах випробуваного й стандартного розчинів, згідно з корисною моделлю, беруть хроматографічну колонку з силікагелем, що модифікований алкільними групами з полярною вставкою в ланцюзі, як рухому фазу додатково беруть 0,03-0,1 процентний розчин трифтороцтової кислоти у воді, причому в режимі лінійного градієнта склад рухомої фази змінюють від названого розчину трифтороцтової кислоти до його суміші з ацетонітрилом, в такому об'ємному співвідношенні:

0,03-0,1 процентний розчин трифтороцтової кислоти	40-42
ацетонітрил	58-60,

а детектування здійснюють за довжини хвилі 280 нм.

Технічним результатом способу, що заявляється, є зменшення часу, потрібного для отримання однієї хроматограми, від 21-26 хвилин (за прототипом) до 15-17 хвилин.

Спосіб, що заявляється, здійснюють так. За точною наважкою препарату, що аналізується, готують розчин, який, за потреби, фільтрують. Аналогічно готують розчини стандартних зразків (РСЗ) речовин, кількісний вміст яких потрібно визначити. Однакові об'єми випробуваного розчину та розчину РСЗ послідовно хроматографують на рідинному хроматографі обладнаному спектрофотометричним детектором з діодною матрицею, термостатом колонок, насосом з градієнтним краном та автосемплером (наприклад HP 1100) та колонкою Symmetry Shield RP-8 150*4.6 5 мкм у режимі лінійного градієнта з використанням як рухомої фази елюенту А (0,03-0,1 % розчин трифтороцтової кислоти у воді) та елюенту В (ацетонітрил). Склад рухомої фази змінюють від названого розчину трифтороцтової кислоти до його суміші з ацетонітрилом в такому об'ємному співвідношенні:

0,03-0,1 процентний розчин трифтороцтової кислоти	40-42
ацетонітрил	58-60,

а детектування здійснюють за довжини хвилі 280 нм. Визначають площі піків для визначуваних речовин на отриманих хроматограмах та розраховують кількісний вміст кожної з них.

Для здійснення способу, що заявляється, брали такі пристрої та реагенти:

- Рідинний хроматограф обладнаний спектрофотометричним детектором з діодною матрицею, термостатом колонки, насосом з градієнтним краном та автосемплером (наприклад HP1100).

- Хроматографічні колонки Supelcosil LC-ABZ 150*4.6 5 мкм; XBridge Shield RP18; Symmetry Shield RP-8 150*4.6 5 мкм; Symmetry Shield RP-18 150*4.6 5 мкм. Довжина колонок 2-50 см, діаметр 1-8 мм. Всі колонки з привитою алкільною фазою, що містить полярні фрагменти (embedded polar).

- Ацетонітрил, для ВЕРХ.

- Трифтороцтова кислота, хч.

- Вода, дистильована, доочищена у системі мембранної фільтрації Millipore.

Далі можливість здійснення способу, що заявляється, підтверджується наступними прикладами.

Приклад 1. Кількісне визначення кодеїну фосфату, хлорфеніраміну maleату, натрію бензоату, метилпарабену, пропілпарабену в препараті протикашлевої дії сиропі "Кофекс". Сироп "Кофекс" є аналогом сиропу "Коделак", спосіб аналізу якого описаний у прототипі, але має більше число компонентів: додатково містить хлорфеніраміну maleат та натрію бензоат. Для приготування випробуваного розчину точну наважку 5 мл сиропу переносять у мірну колбу ємністю 100 мл, розчиняють у воді дистильованій доочищеній у системі мембранної фільтрації Millipore (далі: "дистильована вода"). Об'єм розчину в мірній колбі доводять до мітки дистильованою водою і ретельно перемішують. Одержаний розчин фільтрують через шприцевий мембранний фільтр діаметром 25 мм і пористістю 0,45 мкм, відкидаючи перші 5 мл фільтрату. Для приготування розчину РСЗ у мірну колбу на 100 мл переносять точну наважку 40 мг хлорфеніраміну maleату, 100 мг кодеїну фосфату, 150 мг бензоату натрію, 75 мг метилпарабену та 20 мг пропілпарабену. Додають 20 мл ацетонітрилу, 20 мл дистильованої води і перемішують вміст колби до розчинення речовин. Об'єм розчину в мірній колбі доводять до мітки дистильованою водою і ретельно перемішують. За допомогою піпетки відбирають 5,0 мл отриманого розчину і розбавляють дистильованою водою до об'єму 50 мл. По 20 мкл

5 випробуваного розчину та розчину РСЗ послідовно хроматографують на рідинному хроматографі, обладнаному спектрофотометричним детектором з діодною матрицею, термостатом колонок, насосом з градієнтним краном та автосемплером (наприклад HP 1100) та
 10 таблиці 1, з використанням як рухомої фази елюента А (0,05 % розчин трифтороцтової кислоти в воді) та елюента В (ацетонітрил). Швидкість рухомої фази - 1,4 мл/хв. Довжина хвилі детектування - 280 нм. Часи елюювання речовин з колонки: кодеїну фосфат-7,2 хв., хлорфеніраміну малеат-9,0 хв., натрію бензоат - 11,8 хв., метилпарабен - 12,5 хв., пропілпарабен - 15,2 хв. Час, потрібний для отримання однієї хроматограми, 18 хвилин.

Визначають площі піків для аналітів на отриманих хроматограмах та розраховують кількісний

вміст кожного з них за формулою:
 $X, \text{ мг/5мл} = (S/S_0) \cdot (m_0/M) \cdot P(\%) \cdot D/200$, де: S - площа піка на хроматограмі досліджуваного розчину;

S₀ - площа піка на хроматограмі стандартного розчину;

15 M₀ - маса наважки РСЗ, в мг;

P(%) - вміст основної речовини в стандартній речовині, %.

D - густина сиропу, г/см³

M - маса наважки препарату, г

20 Приклади 2, 3. Спосіб, що заявляється здійснювали так, як описано у прикладі 1, за винятком того, що змінювали параметри способу. Параметри, а також досягнутий результат, наведено у прикладах 2 та 3 таблиці.

Наведені приклади підтверджують можливість здійснення способу, що заявляється, і показують досягнення технічного результату. Час, потрібний для отримання однієї хроматограми становить 15-17 хвилин

25 Здійснення способу, що заявляється, можливе з використанням стандартного обладнання хроматографічної лабораторії і не потребує значних додаткових фінансових затрат.

Таблиця

№ прикладу	Концентрація трифтороцтової	Вміст ацетонітрилу на четвертій хвилині хроматогр.	Час до максимального зростання концентрації ацет.	Максимальний вміст ацетонітрилу при хроматогр.	Час, потрібний для отримання однієї хроматогр., хв.
1	0,05	4,0	11	59,0	15,0
2	0,1	3,0	12	60,0	16,0
3	0,01	5,0	13	50,0	17,0

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб кількісного визначення вмісту компонентів у препараті протикашлевої дії, що включає хроматографування розчину випробуваного препарату та розчину робочого стандартного зразка на рідинному хроматографі з ультрафіолетовим детектором і обернено-фазовою хроматографічною колонкою у режимі лінійного градієнта зміни складу рухомої фази, до складу якої входить ацетонітрил, одержання не менш трьох хроматограм для кожного досліджуваного розчину, розрахунок кількісного вмісту речовин, які визначають, за площами піків на
- 10 хроматограмах випробуваного й стандартного розчинів, який **відрізняється** тим, що беруть хроматографічну колонку з силікагелем, що модифікований алкільними групами з полярною вставкою в ланцюзі, як рухому фазу додатково беруть 0,03-0,1 процентний розчин трифтороцтової кислоти у воді, причому в режимі лінійного градієнта склад рухомої фази змінюють від названого розчину трифтороцтової кислоти до його суміші з ацетонітрилом, у
- 15 такому об'ємному співвідношенні:
 0,03-0,1 процентний розчин
 трифтороцтової кислоти 40-42
 ацетонітрил 58-60,
 а детектування здійснюють за довжини хвилі 280 нм.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601