



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **93089** (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 09314</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 СКЛАДНИХ БАГАТОКОМПОНЕНТНИХ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТАХ ЖАРОЗНИЖУЮЧОЇ, АНАЛГЕЗУЮЧОЇ, ПРОТИЗАСТУДНОЇ ДІЇ

(57) Реферат:

Спосіб кількісного визначення вмісту компонентів у складних багатокомпонентних лікарських препаратах жарознижуючої, анагезуючої, протизастудної дії 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. Беруть хроматографічну колонку з силікагелем, модифікованим алкільними групами з полярною вставкою в ланцюзі, як рухому фазу крім ацетонітрилу додатково беруть 0,03 - 0,1 процентний розчин трифтороцтової кислоти у воді, причому в режимі лінійного градієнта вміст ацетонітрилу в рухомій фазі від початку хроматографування до четвертої хвилини збільшують від 0 до 4 - 5%, потім до 11 - 15 хвилини вміст ацетонітрилу в рухомій фазі зростає від 4 - 5% до 58 - 60%, а до закінчення процесу хроматографування рухома фаза містить лише 0,03 - 0,1 процентний розчин трифтороцтової кислоти у воді.

UA 93089 U

Корисна модель належить до вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), а саме до способів визначення кількісного складу багатокомпонентних лікарських препаратів жарознижуючої, аналгезуючої, протизастудної дії, і може бути використана у контрольно-аналітичних лабораторіях та фармацевтичних підприємствах.

5 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 препаратів протизастудної, антиалергічної дії, що містять аскорбінову кислоту, парацетамол, феніраміну малеат і фенілеферину 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.

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

20 Відомий спосіб визначення кількісного складу багатокомпонентного лікарського препарату жарознижуючої, аналгезуючої, протизастудної дії (патент Російської Федерації № 2332663; МПК G01N 33/15 (2006.01), дата публікації 27.08.2008). У способі визначають анальгін, кофеїн, кодеїн, фенобарбітал і напроксен. 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 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, анальгіну та продукту його розкладання.

30 Причинами, що перешкоджають одержанню потрібного технічного результату, є:
- використання у складі рухомої фази фосфатного буферного розчину, який може призвести до кристалізації солей в хроматографічній системі;
- відносно надмірна витрата часу для отримання хроматограми.

35 За прототип вибрано спосіб кількісного визначення складу багатокомпонентних лікарських препаратів жарознижуючої, аналгезуючої, протизастудної дії (Заявка на винахід РФ № 2003118797/15, МПК А61К 35/78, дата публікації заявки: 27.12.2004). За цим способом методом обернено-фазової вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) виконують аналіз препаратів, що містять:

40 - парацетамол, пропіфеназон, кофеїн, фенобарбітал, кодеїну фосфат;
- парацетамол, аскорбінову кислоту, кодеїну фосфат, фенілеферину гідрохлорид, хлорфеніраміну малеат;
- парацетамол, теофілін, кофеїн, фенобарбітал, ефедрину гідрохлорид;
- кодеїну фосфат, ніпагін, ніпазол.

45 Хроматографування проводять у режимі лінійного градієнта, нахил і тривалість якого визначають властивостями компонентів аналізованого препарату, з використанням як рухомої фази фосфатного буферного розчину й суміші ацетонітрилу з фосфатним буферним розчином. У деяких випадках як рухому фазу використовують воду, суміш ацетонітрилу з водою та суміш ацетонітрилу з фосфатним буферним розчином.

50 Спільними ознаками зі способом, що заявляється, є 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 за площами піків на хроматограмах випробуваного та стандартного розчинів.

55 Причинами, що перешкоджають досягненню потрібного технічного результату є нестабільність роботи хроматографічної колонки, що обумовлена зміною вмісту фосфатного буферного розчину в рухомій фазі у процесі розділення компонентів суміші та відповідною зміною іонної сили в рухомій фазі протягом хроматографування. Крім цього, використання у прототипі фосфатного буферного розчину за певних умов може викликати кристалізацію солей

в хроматографічній системі, що істотно погіршить роздільну здатність хроматографічної колонки або навіть може пошкодити прилад.

В основу корисної моделі поставлена задача у способі кількісного визначення вмісту компонентів у складних багатокомпонентних лікарських препаратах жарознижуючої, анальгезуючої, протизастудної дії шляхом зміни реагентів та параметрів способу, забезпечити стабільність роботи хроматографічної колонки, а також запобігти можливість кристалізації солей в хроматографічній системі.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі кількісного визначення вмісту компонентів у складних багатокомпонентних лікарських препаратах жарознижуючої, анальгезуючої, протизастудної дії, який 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 за площами піків на хроматограмах випробуваного й стандартного розчинів, згідно з корисною моделлю, беруть хроматографічну колонку з силікагелем, модифікованим алкільними групами з полярною вставкою в ланцюзі, як рухому фазу крім ацетонітрилу додатково беруть 0,03-0,1 процентний розчин трифтороцтової кислоти у воді, причому в режимі лінійного градієнта вміст ацетонітрилу в рухомій фазі від початку хроматографування до четвертої хвилини збільшують від 0 до 4-5 %, потім до 11-15 хвилини вміст ацетонітрилу в рухомій фазі зростає від 4-5 % до 58-60 %, а до закінчення процесу хроматографування рухома фаза містить лише 0,03-0,1 процентний розчин трифтороцтової кислоти у воді.

Технічним результатом способу, що заявляється, є стабільність роботи хроматографа без можливості кристалізації солей у хроматографічній системі.

Спосіб, що заявляється, здійснюють так. За точною наважкою препарату, що аналізується, готують розчин аналізованого препарату, 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 або Supelcosil LC-ABZ 150'4.6 5 мкм у режимі лінійного градієнта з використанням як рухомої фази елюенту А (0,01-0,1 % розчин трифтороцтової кислоти у воді) та елюенту В (ацетонітрил). Вміст ацетонітрилу в рухомій фазі від початку хроматографування до четвертої хвилини збільшують від 0 % до 4-5 %, потім до 11-15 хвилини вміст ацетонітрилу в рухомій фазі зростає від 4-5 % до 58-60 %, а до закінчення процесу хроматографування рухома фаза містить лише 0,03-0,1 процентний розчин трифтороцтової кислоти у воді. Детектування здійснюють за довжини хвилі 240, 254, 280, 290, 300 нм сумарно в методиках, але не більше ніж три довжини хвилі в одній методиці. 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 парацетамолу, хлорфеніраміну maleату, натрію бензоату метилпарабену, пропілпарабену в сиропі "Флюколд сироп" Для приготування випробуваного розчину точну наважку 5 мл сиропу переносять у мірну колбу ємністю 100 мл, розчиняють у воді та доводять до мітки за допомогою води. Фільтрують через шприцевий мембранний фільтр діаметром 25 мм і пористістю 0,45 мкм, відкидаючи перші 5 мл фільтрату. Приготування розчину стандартних речовин:

Приготування вихідного розчину хлорфеніраміну maleату, метилпарабену та пропілпарабену: наважку 40 мг хлорфеніраміну maleату, 100 мг метилпарабену та 20 мг пропілпарабену вносять в колбу 100 мл. Додають 20 мл ацетонітрилу, перемішують до розчинення і доводять до мітки водою. Приготування розчину стандарту для хроматографування: точну наважку 125 мг парацетамолу та 20 мг бензоату натрію вносять в колбу 100 мл, додають 5 мл вихідного розчину хлорфеніраміну maleату, метилпарабену та пропілпарабену, додають 50 мл води, обробляють ультразвуком до розчинення, доводять до мітки водою. По 20 мкл випробуваного розчину та розчину стандартних речовин 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 в режимі лінійного градієнта з використанням як рухомої фази елюенту А (0,05 % розчин трифтороцтової кислоти в воді) та елюенту В (ацетонітрил). Склад рухомої фази змінюється за наступною програмою:

Час, хв...	Елюент А, %	Елюент В, %
0	100	0
4	96	4
15	41	59
15.1	100	0
18	100	0

Швидкість рухомої фази - 1,4 мл/хв. Довжина хвилі детектування - 280 нм для хлорфеніраміну, метилпарабену та пропілпарабену, 300 нм для парацетамолу. Часи елюювання речовин з колонки:

Парацетамол - 6,8 хв., хлорфенірамін - 9,0 хв., бензоат -11,8 хв., метилпарабен- 12,5 хв., пропілпарабен - 15,2 хв.

Визначають площі аналітів на отриманих хроматограмах та розраховують кількісний вміст парацетамолу, натрію бензоату за формулою:

$$X, \text{ мг/5мл} = (S/S_0) \cdot (m_0/M) \cdot P(\%) \cdot D/20$$

Хлорфеніраміну maleат, метилпарабен, пропілпарабен розраховують за формулою, що трохи відрізняється від попередньої:

$$X, \text{ мг/5мл} = (S/S_0) \cdot (m_0/M) \cdot P(\%) \cdot D/400.$$

У наведених формулах використано наступні позначення:

S - площа піка на хроматограмі досліджуваного розчину;

S₀ - площа піка на хроматограмі стандартного розчину;

m₀ - маса наважки стандартної речовини, в мг;

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

D - густина сиропу, г/см³

M - маса наважки препарату, г

Приклад 2. Кількісне визначення гуайфенезину, декстрометорфану гідроброміду, бензоату натрію в сиропі "Туссін плюс". Для приготування випробуваного розчину точну наважку 5 мл сиропу переносять у мірну колбу ємністю 100 мл, розчиняють у воді та доводять до мітки за допомогою води. Фільтрують через шприцевий мембранний фільтр діаметром 25 мм і пористістю 0,45 мкм, відкидаючи перші 5 мл фільтрату. Приготування вихідного розчину декстрометорфану гідроброміду, бензоату натрію: наважку 50 мг декстрометорфану гідроброміду, 25 мг бензоату натрію вносять в колбу 50 мл. Додають 10 мл ацетонітрилу, 10 мл води перемішують і доводять до мітки водою. Приготування розчину стандарту для хроматографування: точну наважку 100 мг гуайфенезину вносять в колбу 100 мл, додають 10 мл вихідного розчину декстрометорфану гідроброміду, бензоату натрію, додають 10 мл ацетонітрилу, 10 мл води, обробляють ультразвуком до розчинення, доводять до мітки водою. Хроматографування проводили так, як описано у прикладі 1, за винятком того, що брали колонку Supelcosil LC-ABZ 150-4.6 5 мкм, а склад рухомої фази змінювали за наступною програмою:

Час, хв.	Елюент А, %	Елюент В, %
0	100	0
4	96	4
11	46	39
11.1	100	0
14	100	0

Швидкість рухомої фази - 1,3 мл/хв.

Довжина хвилі детектування - 280 нм для декстрометорфану та бензоату натрію, 290 нм для гуайфенезину. Часи елюювання речовин з колонки:

5 Гуайфенезин - 9,4 хв., бензоат - 11,2 хв., декстрометорфан - 11,5 хв., Визначають площі аналітів на отриманих хроматограмах. Кількісний вміст гуайфенезину розраховують за формулою:

$$X, \text{ мг/5мл} = (S/S_0) \cdot (m_0/M) \cdot P(\%) \cdot D/20$$

Кількісний вміст декстрометорфану гідроброміду, бензоату натрію розраховують за формулою:

10 $X, \text{ мг/5мл} = (S/S_0) \cdot (m_0/M) \cdot P(\%) \cdot D/100$ Позначення у формулах, як у прикладі 1

15 Приклад 3. Кількісне визначення парацетамолу, хлорфеніраміну малеату, декстрометорфану гідроброміду, цетиризину гідрохлориду, метилпарабену, пропілпарабену в сиропі "Мілістан мультисимптомний". Для приготування випробуваного розчину точну наважку 5 мл сиропу переносять у мірну колбу ємністю 100 мл, розчиняють у воді та доводять до мітки за допомогою води. Фільтрують через шприцевий мембранний фільтр діаметром 25 мм і пористістю 0,45 мкм, відкидаючи перші 5 мл фільтрату.

20 Приготування вихідного розчину декстрометорфану гідроброміду, цетиризину гідрохлориду, хлорфеніраміну малеату, метилпарабену, пропілпарабену: наважку 100 мг декстрометорфану гідроброміду, 50 мг цетиризину гідрохлориду, 20 мг хлорфеніраміну малеату, 100 мг метилпарабену, 20 мг пропілпарабену вносять в колбу 100 мл. Додають 20 мл ацетонітрилу, 20 мл води перемішують і доводять до мітки водою. Приготування розчину стандарту для хроматографування: точну наважку 160 мг гуайфенезину вносять в колбу 100 мл, додають 5 мл вихідного розчину декстрометорфану гідроброміду, цетиризину гідрохлориду, хлорфеніраміну малеату, метилпарабену, пропілпарабену, додають 10 мл ацетонітрилу, 10 мл води, обробляють ультразвуком до розчинення, доводять до мітки водою. Хроматографування проводили так, як описано у прикладі 1, за винятком того, що склад рухомої фази змінювали за наступною програмою:

Час, хв.	Елюент А, %	Елюент В, %
0	100	0
4	96	4
15	41	59
15.1	100	0
18	100	0

30 Швидкість рухомої фази - 1,4 мл/хв. Довжина хвилі детектування - 240 для цетиризину, 280 нм для хлорфеніраміну, метилпарабену та пропілпарабену, декстрометорфану 300 нм для парацетамолу. Часи елюювання речовин з колонки:

35 Парацетамол - 6,8 хв., хлорфенірамін - 9,0 хв., декстрометорфан - 10,8 хв, цетиризин - 12,2 хв., метилпарабен- 12,5 хв., пропілпарабен - 15,2 хв. Визначають площі аналітів на отриманих хроматограмах. Кількісний вміст парацетамолу розраховують за формулою:

$$X \text{ мг/5мл} = S/S \cdot m_0/M \cdot P(\%) \cdot D/20$$

Кількісний вміст цетиризину гідрохлориду, декстрометорфану гідроброміду, хлорфеніраміну малеату, метилпарабену, пропілпарабену розраховують за формулою:

40 $X, \text{ мг/5мл} = (S/S_0) \cdot (m_0/M) \cdot P(\%) \cdot D/400$ Позначення у формулах, як і для прикладу 1.

45 Приклад 4. Кількісне визначення кодеїну фосфату, парацетамолу, бензоату натрію, псевдоефедрину гідрохлориду, метилпарабену та пропілпарабену в сиропі "Кодефемол". Для приготування випробуваного розчину точну наважку 5 мл сиропу переносять у мірну колбу ємністю 100 мл, розчиняють у воді та доводять до мітки за допомогою води. Фільтрують через шприцевий мембранний фільтр діаметром 25 мм і пористістю 0,45 мкм, відкидаючи перші 5 мл фільтрату.

Приготування розчину стандартних речовин.

50 Приготування вихідного розчину псевдоефедрину гідрохлориду, кодеїну та метилпарабену: наважку 50 мг кодеїну фосфату, 75 мг псевдоефедрину гідрохлориду та 30 мг метилпарабену вносять в колбу 50 мл. Додають 5 мл ацетонітрилу, перемішують до розчинення і доводять до мітки водою. Приготування вихідного розчину пропілпарабену: точну наважку 25 мг пропілпарабену вносять в мірну колбу 100 мл, додають 10 мл ацетонітрилу для розчинення, доводять до мітки водою.

Приготування розчину стандарту для хроматографування: точну наважку 60 мг парацетамолу вносять в колбу 100 мл, додають 5 мл вихідного розчину псевдоефедрину

гідрохлориду, кодеїну та метилпарабену, додають 3мл вихідного розчину пропілпарабену, додають 50 мл води, обробляють ультразвуком до розчинення, доводять до мітки водою.

Хроматографування проводили так, як описано у прикладі 1, за винятком того, що використовували колонку Supelcosil LC-ABZ 1504.6 5 μm та склад рухомої фази змінювали за наступною програмою:

Час, хв...	Елюент А, %	Елюент В, %
0	100	0
4	96	4
14	46	54
14.1	100	0
17	100	0

Швидкість рухомої фази - 1,3 мл/хв.

Довжина хвилі детектування - 280 нм для кодеїну, метилпарабену та пропілпарабену, 300 нм для парацетамолу, 215 нм для псевдо ефедрину.

Часи елюювання речовин з колонки: Парацетамол - 6,7 хв., псевдоефедрин - 7,3 хв., кодеїн - 7,7 хв., метилпарабен- 11,6 хв., пропілпарабен - 14,5 хв.

Визначають площі аналітів на отриманих хроматограмах та розраховують кількісний вміст кожного з них за формулою:

Парацетамол:

$X, \text{ мг/5мл} = (S/S_0) \cdot (m_0/M) \cdot P(\%) \cdot D/20$ Кодеїн, псевдоефедрину гідрохлорид, метилпарабен:

$X, \text{ мг/5мл} = (S/S_0) \cdot (m_0/M) \cdot P(\%) \cdot D/200$ Пропілпарабен:

$X, \text{ мг/5мл} = (S/S_0) \cdot (m_0/M) \cdot P(\%) \cdot D/2000$ Позначення у формулах, як і для прикладу 1.

Наведені приклади підтверджують можливість здійснення способу, що заявляється.

Проведення значного числа аналізів у ДП "Центральна лабораторія з аналізу якості лікарських засобів та медичної продукції" підтверджують досягнення технічного результату: стабільність роботи хроматографа без можливої кристалізації солей у хроматографічній системі та.

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

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб кількісного визначення вмісту компонентів у складних багатокомпонентних лікарських препаратах жарознижуючої, анальгезуючої, протизастудної 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, який **відрізняється** тим, що беруть хроматографічну колонку з силікагелем, модифікованим алкільними групами з полярною вставкою в ланцюзі, як рухому фазу крім ацетонітрилу додатково беруть 0,03 - 0,1 процентний розчин трифтороцтової кислоти у воді, причому в режимі лінійного градієнта вміст ацетонітрилу в рухомій фазі від початку хроматографування до четвертої хвилини збільшують від 0 до 4 - 5 %, потім до 11 - 15 хвилини вміст ацетонітрилу в рухомій фазі зростає від 4 - 5 % до 58 - 60 %, а до закінчення процесу хроматографування рухома фаза містить лише 0,03 - 0,1 процентний розчин трифтороцтової кислоти у воді.

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