

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФЕНІГІДИНУ МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Погосян О.Г., Полуян С.М., Шовкова З.В.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Вступ. Серцево-судинні захворювання посідають перше місце серед інших форм патології. Для лікування нападів стенокардії використовується досить широкий арсенал засобів, що мають антиангінальну дію. Зокрема до них відносяться антагоністи кальцію, які є ефективними для лікування стенокардії і артеріальної гіпертонії, серед яких одним з широко застосовуваних є фенігідин. Фенігідин (ніфедипін, корінфар)–2,6-диметил-4-(2-нітрофеніл)-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти диметилловий етер, відноситься до препаратів списку Б і в літературі описані випадки отруєння цим препаратом.

Судово-медична діагностика інтоксикацій антиангінальними препаратами складає важку задачу, так як обставини отруєння часто невідомі, а клінічне виявлення його досить неспецифічне. Крім того, препарати цієї групи в організмі не викликають суттєвих органічних перетворень з характерними морфологічними змінами.

Тому розробка методів судово-хімічного аналізу фенігідину, які до теперішнього часу недостатньо розроблені, є актуальним завданням і виявляються основним засобом підтвердження отруєння антиангінальними препаратами.

Мета дослідження. Вивчити та обґрунтувати умови для кількісного визначення фенігідину методом вискоєфективної рідинної хроматографії. Для цього провести вибір розчинника, внутрішнього стандарту, а також розробити умови для проведення кількісного визначення фенігідину.

Методи дослідження. Метод вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) в останні роки набув дуже швидкого розвитку, що своїми успіхами зобов'язаний тим теоретичним, методичним, апаратурним досягненням, які були надбані в газовій хроматографії. ВЕРХ є найрозповсюдженішим в світі методом аналізу об'єктів хімії ліків. Перевага ВЕРХ перед іншими хромаграфічними методами аналізу, зокрема газорідинної хроматографії (ГРХ) в тому, що за допомогою ВЕРХ можна розділяти та виявляти речовини незалежно від їх температури кипіння, молекулярної маси та термолабільності [1]. Рідинна хроматографія поділяється на два типи: нормальнофазова та оберненофазова, які ґрунтуються на відносній полярності рухомої та стаціонарної фаз. У сучасній аналітичній практиці 70% реалізацій вискоєфективної рідинної хроматографії припадає на оберненофазовий варіант. В основному оберненофазовий хроматографічний режим реалізується на сорбентах, які являють собою силікагелі з прищепленими алкільними групами C_8 і C_{18} (октилсилікагель і октадецилсилікагель).

Метод рідинної хроматографії стає одним з розповсюджених методів у фармації, фармакології, біології тощо. Застосуванню цього методу присвячена значна кількість публікацій [2], а також його використанню в аналізі фармацевтичних препаратів, в тому числі фенігідину. Тому було поставлене

завдання розробити методику кількісного аналізу фенігідину методом високоефективної рідинної хроматографії.

Хроматографічний аналіз здійснювали на мікроколонковому рідинному хроматографі «Міліхром А-02», який обладнано спектрофотометричним детектором. Чутливість детектора становила 0.05 од. оптичної густини на шкалу. Розділення речовин робили на металевій мікроколонці розміром 2x75 мм, яка була наповнена сорбентом з прищепленою неполярною хімічно сполученою вуглеводневою фазою C₁₈ (Nucleosil 100-5 C₁₈) з розміром частинок 5 мкм; ефективністю розділення колонки N≈5000 теоретичних тарілок. В якості елюенту використовували суміш ацетонітрилу з водою (80:20). Хроматографування проводили при підвищеній температурі 45⁰ С та тиску 5.6 мПа для скорочення часу аналізу. Швидкість елюювання складала 130 мкл/хв. Для вибору хвилі детектування був записаний УФ-спектр 0.05% розчину фенігідину в метанолі (аналізована проба 2 мкл). При цьому спостерігалися чітко виявлені максимуми поглинання при λ=236 нм і λ=330 нм. Для кількісного визначення фенігідину методом ВЕРХ будували градуювальний графік. Близько 50 мг (точна наважка) фенігідину вміщували в мірну колбу на 100 мл і розчиняли в метанолі, доводили об'єм розчину до мітки тим самим розчинником. Потім по 0.2; 0.5; 1.0; 1.5 та 2.0 мл метанольного розчину переносили в пікнометр на 10 мл, додавали по 5 мл 5% розчину ефедрину гідрохлориду (внутрішній стандарт) і доводили об'єм аналізованої проби – 2 мкл. Градуювальний графік будували в координатах C_ф – S_ф/ S_е, де C_ф – концентрація фенігідину в мкг/мкл, S_ф і S_е – площі хроматографічних піків фенігідину та ефедрину гідрохлориду в мм² відповідно.

Основні результати. Одержаний градуювальний графік використовували для кількісного визначення фенігідину в розчинах. З цією метою готували метанольні розчини фенігідину різної концентрації (від 15 до 95 мкг в 1 мл). 1 мл метанольного розчину вносили в пікнометр на 10 мл, додавали 5 мл 5% розчину ефедрину гідрохлориду і доводили об'єм до мітки метанолом. Кількісний вміст фенігідину в розчинах розраховували за градуювальним графіком.

Висновки. Розроблена методика кількісного визначення фенігідину за допомогою методу високоефективної рідинної хроматографії. Встановлено, що відносний час утримання препарату складає 1.55 ± 0.03 хв, а відносна помилка середнього результату визначення - ± 2.55%. Градуювальний графік залишається в межах концентрацій від 10 до 100 мкг/мл. З отриманих даних видно, що метод є достатньо чутливим, що дає нам можливість використовувати його для цілей хіміко-токсикологічного аналізу фенігідину.

Список літератури

1. Аналітична токсикологія : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. / С. В. Баярка, В. С. Бондар, С. І. Мерзлікін та ін. – Харків: НФаУ: Золоті сторінки, 2017. – 384 с.
2. Clark's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material / A. C. Moffat, M. D. Osselton, B. Widdop [et al.]. – 4-th ed. – London; Chicago : Pharmaceutical Press, 2011.– 2736 p.