

УДК

ПРОЕКТ ОБЩЕЙ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ “ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ”

© 2004 г. В.Л. Дорофеев, А.П. Арзамасцев, Н.П. Садчикова

Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова

Разработан проект общей фармакопейной статьи “Высокоэффективная жидкостная хроматография”. В качестве исходного материала использована общая фармакопейная статья Государственной фармакопеи СССР 11-го издания “Высокоэффективная жидкостная хроматография (жидкостная хроматография высокого давления)” (выпуск 1, стр. 110). Были приняты во внимание соответствующие статьи Фармакопеи США 26-го издания (2003 г.) и Европейской фармакопеи 4-го издания (2002 г.).

ВВЕДЕНИЕ

Проект настоящей общей фармакопейной статьи (ОФС) составлен с учетом современных достижений в области жидкостной хроматографии. В качестве исходного материала использована общая фармакопейная статья Государственной фармакопеи СССР 11-го издания “Высокоэффективная жидкостная хроматография (жидкостная хроматография высокого давления)” (выпуск 1, стр. 110). Были приняты во внимание соответствующие статьи Фармакопеи США 26-го издания (2003 г.) и Европейской фармакопеи 4-го издания (2002 г.). Используются современная литература и данные ведущих производителей аналитического оборудования и программного обеспечения для ВЭЖХ.

В проекте настоящей ОФС кратко описаны возможные механизмы разделения в ВЭЖХ. Определены понятия нормально-фазового и обращено-фазового режимов работы, указаны их основные преимущества и недостатки.

В ОФС учтено, что в РФ множество аналитических лабораторий и центров контроля качества лекарственных средств используют в своей работе морально устаревшее хроматографическое оборудование (микроколоники, самописцы и т.п.). Тем не менее, при описании метода основное внимание уделено современной аналитической ВЭЖХ и использованию аналитических колонок, наиболее пригодных для установления подлинности, количественного определения и особенно анализа чистоты лекарственных средств.

Учитывая модульный характер жидкостного хроматографа, материал в данной ОФС изложен путем описания основных блоков хроматографической системы. При этом в каждом разделе ОФС даются

указания на наиболее часто применяемые в современном фармацевтическом анализе вообще (и фармакопейном в частности) режимы работы каждого модуля и используемые материалы (сорбенты, растворители и т.п.).

В проекте ОФС приводится ряд справочных данных. В частности, при описании насосной системы представляется целесообразным привести соотношение между единицами измерения давления, используемыми в современных хроматографах. Такая необходимость обусловлена распространением на российском рынке систем различных производителей, использующих свои единицы измерения. В то же время, современные поставщики хроматографического программного обеспечения (например, Ampersand, Россия) позволяют выводить на экран монитора показания давления в любых наиболее распространенных единицах. Таким образом, краткая справочная таблица поможет в работе как более опытному (привыкшему к определенным показаниям прибора), так и начинающему аналитику, проводящему фармакопейный анализ.

Также в разделе “подвижная фаза” приводятся справочные данные по наиболее распространенным в жидкостной хроматографии растворителям. Эти данные помогут легче сориентироваться аналитику при выборе растворителя с необходимой элюирующей силой, учесть возможности подвижной фазы при детектировании на низких длинах волн, что особенно важно при стандартизации лекарственных средств.

Наличие в ОФС кратких справочных данных и более или менее подробного описания отдельных модулей хроматографа и предпочтительных режимов работы также учитывает тот факт, что специалист в области фармакопейного анализа не всегда одновременно является специалистом в области хро-

матографии и соответствующего оборудования.

В разделе “детектор” отдельно оговариваются возможности современной хроматографической системы по детектированию следовых количеств веществ. Это имеет большое значение при разработке методик анализа на посторонние примеси. Вместе с тем, как продолжение этой темы, но в качестве отдельного раздела (“концентрация испытуемого раствора”) приводятся общие рекомендации по концентрации анализируемых растворов при установлении подлинности, анализе чистоты и количественном определении. Конкретные значения не указаны, поскольку они могут варьировать в зависимости от множества факторов: тип детектора, свойства анализируемого вещества (например, удельный показатель поглощения) и др.

Отдельно в ОФС оговорены условия хроматографирования, которые должны быть указаны в НД на конкретное лекарственное средство при его анализе методом ВЭЖХ.

В статье не приводится описание хроматографических параметров и способов их расчета, а также требования к описанию пригодности хроматографической системы. Представляется целесообразным введение в Государственную фармакопею РФ отдельной ОФС, описывающей хроматографию как метод и соответствующие хроматографические параметры, поскольку они в большинстве своем являются общими как для газовой, так и для жидкостной хроматографии, а по ряду характеристик – и для тонкослойной хроматографии. Такой подход является наиболее логичным и применяется, например, в Европейской фармакопее (в Фармакопее США имеется одна общая статья “Хроматография” под № <621>).

ТЕКСТ ПРОЕКТА СТАТЬИ

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – это современная форма реализации классической колоночной жидкостной хроматографии. Иногда по отношению к ВЭЖХ продолжает применяться устаревший термин “жидкостная хроматография высокого давления”.

Подвижная фаза в ВЭЖХ (элюент) представляет собой жидкость, которая под давлением движется через хроматографическую колонку, заполненную неподвижной фазой – сорбентом.

Механизмы удерживания в ВЭЖХ могут быть различными: адсорбция, распределение, ионный обмен, эксклюзионная хроматография, стереохимическое взаимодействие.

ВЭЖХ также подразделяют на нормально-фазовую и обращено-фазовую.

Нормально-фазовая хроматография – это такой

вариант разделения, когда подвижная фаза менее полярна, чем неподвижная. В этом случае в качестве сорбента часто применяют силикагель или полярные привитые фазы, а в качестве подвижной фазы – гексан, гептан, хлороформ и другие неполярные растворители.

Обращено-фазовая хроматография – такой вариант разделения, когда подвижная фаза более полярна, чем неподвижная. В качестве сорбента в этом варианте обычно выступают неполярные привитые фазы, а элюентом служат смеси полярных растворителей – воды, ацетонитрила, метанола и др.

ВЭЖХ может использоваться как для аналитических, так и для препаративных целей.

Аналитическая ВЭЖХ может применяться для установления подлинности, анализа чистоты и количественного определения негазообразных лекарственных веществ. После соответствующей пробоподготовки по тем же параметрам могут анализироваться и лекарственные препараты. Спектр анализируемых соединений очень широк и ограничивается только возможностями детектирования.

Современный жидкостный хроматограф обычно состоит из следующих основных модулей.

1. Емкость с подвижной фазой или емкости с отдельными растворителями, входящими в состав подвижной фазы.
2. Насосная система.
3. Смеситель.
4. Дозирующая система (инжектор) для ввода пробы.
5. Хроматографическая колонка.
6. Детектор.
7. Емкости для сбора отработанной подвижной фазы.
8. Система сбора и обработки данных.

В ряде случаев применяются системы термостатирования хроматографических колонок.

Насосная система

Насосы обеспечивают подачу растворителей в колонку с определенной постоянной скоростью, которую обычно задают в диапазоне от 0,5 до 1,5 мл/мин. Наиболее часто оптимальная с точки зрения эффективности хроматографического процесса скорость потока составляет 1 мл/мин. Поскольку сорбент в колонке создает большое сопротивление элюенту, рабочее давление в хроматографической системе между насосами и колонкой обычно составляет от 50 до 200 атм. Современные насосы для аналитической ВЭЖХ могут создавать скорость потока до 5 мл/мин и работать при давлениях до 500 атм., однако, учитывая повышенный износ хроматографических систем и часто неэффективное разделение, таких условий стараются избегать.

В таблице 1 приведены соотношения между наи-

Соотношения между некоторыми единицами давления

Единица	Па	МПа	Атм.	Бар	Пси
1 Па	1,00	10^{-6}	$9,86923 \times 10^{-6}$	10^{-5}	$1,45038 \times 10^{-4}$
1 МПа	10^6	1,00	9,86923	10	145,038
1 атм.	$1,01325 \times 10^5$	0,101325	1,00	1,01325	14,6960
1 бар	10^5	0,1	0,986923	1,00	14,5038
1 пси	6894,74	$6,89474 \times 10^{-3}$	$6,80457 \times 10^{-2}$	$6,89474 \times 10^{-2}$	1,00

более распространенными среди изготовителей хроматографов единицами давления.

Флуктуации давления в хроматографах минимизируются, например, путем пропускания растворителей через систему демпферов. Все соединения по ходу элюента от насосов до колонки должны выдерживать создаваемое давление и, соответственно, не допускать утечку подвижной фазы. Современные жидкостные хроматографы обычно имеют систему контроля давления, и в случае его падения ниже некоторого установленного уровня или превышения определенных критических значений работа насосов автоматически отключается.

Смеситель

В смесителе происходит образование единой подвижной фазы из отдельных растворителей, подаваемых насосами, если необходимая смесь не была получена заранее. Смешивание растворителей обычно происходит самопроизвольно, но иногда применяются системы с принудительным смешиванием.

Дозирующая система (инжектор)

Инжектор для ввода пробы (раствора) располагают непосредственно перед хроматографической колонкой. Поскольку инжектор располагается на участке хроматографической системы, находящейся под высоким давлением, непосредственное введение анализируемого раствора в поток в настоящее время обычно не применяется. Современные инжекторы имеют конструкцию, позволяющую локально изменять направление потока и осуществлять предварительное введение пробы в петлю, имеющую определенный объем, который обязательно указывается в маркировке петли. Наиболее часто в аналитической ВЭЖХ применяются петли с объемом 20 мкл, а также 10 и 50 мкл. Конструкция инжектора позволяет осуществлять замену петли. Для введения анализируемого раствора в инжектор используется ручной микрошприц с объемом, незначительно превосходящим объем петли.

Система предварительного введения пробы в петлю позволяет не только избежать разгерметизации системы, но и увеличивает точность и воспроизводимость анализа, поскольку избыток введенного раствора, не уместившийся в петле, отбрасывается

и в колонку вводится точный и всегда одинаковый объем пробы. Ручное неполное заполнение петли снижает точность и воспроизводимость дозирования и, следовательно, ухудшает точность и воспроизводимость хроматографического анализа.

Для автоматического введения анализируемых растворов применяются автосэмплеры, сочетающие в себе систему отбора проб и систему инъекции.

Хроматографическая колонка

Хроматографические колонки чаще изготавливают из нержавеющей стали. Длина аналитической колонки обычно составляет 10–25 см, внутренний диаметр – от 2 до 6 мм (чаще около 4 мм). Колонки для препаративной хроматографии имеют больший внутренний диаметр – от 7 до 40 мм и более. Колонки с внутренним диаметром менее 2 мм используются в микроколоночной хроматографии. Для проведения фармакопейного анализа рекомендуется применять аналитические колонки.

В заводских условиях колонки заполняются под большим давлением сорбентом.

Часто по ходу потока перед аналитической колонкой располагают предколонку, имеющую значительно меньшую длину и выполняющую защитные функции. Следует использовать предколонку с тем же сорбентом, что и в аналитической колонке.

Неподвижная фаза (сорбент)

В ВЭЖХ применяется множество различных сорбентов.

1. Силикагель, оксид алюминия, пористый графит используются в нормально-фазовой хроматографии. Механизм удерживания в данном случае – обычно адсорбция.
2. Смолы или полимеры с кислотными или основными группами применяются в ионно-обменной хроматографии.
3. Пористый силикагель или полимеры используются в эксклюзионной хроматографии, в которой разделение веществ происходит в соответствии с размерами их молекул.
4. Химически модифицированные сорбенты (сорбенты с привитыми фазами), приготовленные чаще на основе силикагеля. Механизм удерживания в боль-

шинстве случаев – распределение между подвижной и неподвижной фазами.

5. Химически модифицированные хиральные сорбенты, например производные целлюлозы и амилозы, протеины и пептиды, циклодекстрины, используемые для разделения энантиомеров (хиральная хроматография).

Сорбенты с привитыми фазами могут иметь различную степень химической модификации.

В качестве привитых фаз наиболее часто применяются:

1. Октильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}_3]$. Сорбент октилсилан или C_8 .
2. Октадецильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_{17}-\text{CH}_3]$. Сорбент октадецилсилан (ODS) или C_{18} .
3. Фенильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_n(\text{C}_6\text{H}_5)]$. Сорбент C_6H_5 .
4. Цианопропильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{CN}]$. Сорбент CN.
5. Аминопропильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2]$. Сорбент NH_2 .
6. Диольные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{OCH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}]$.

При маркировке колонок часто также применяют аббревиатуру RP (от “reversed phase” – обращенная фаза). Например, C_8 обозначают как RP-8, C_{18} – как RP-18.

В настоящее время большинство анализов выполняется на неполярных привитых фазах в обращено-фазовом режиме (с более полярными элюентами), и наиболее часто применяется сорбент C_{18} .

Обращено-фазовый режим имеет ряд важных преимуществ:

- высокая воспроизводимость данных по времени удерживания;
- быстрое установление равновесия в системе (стабилизация базовой линии);
- работа практически не зависит от наличия в элюенте следовых количеств воды, что, наоборот, критически важно для нормально-фазовой хроматографии;
- упрощение пробоподготовки, возможность хроматографировать растворы веществ в воде и полярных растворителях.

Тем не менее, в некоторых случаях более целесообразно применять нормально-фазовую хроматографию. При этом чаще используют силикагель или наиболее полярные привитые фазы (“циано”, “амино”, “диол”) в сочетании с неполярными растворителями.

Сорбенты с привитыми фазами химически устойчивы при значениях pH от 2,0 до 8,0, если другое специально не оговаривается производителем.

Размер частиц сорбента в аналитической ВЭЖХ обычно составляет 3 – 10 мкм. В препаративной ВЭЖХ применяются сорбенты с более крупными

частицами – до 50 мкм и более. Частицы сорбента могут иметь сферическую или неправильную форму и разнообразную пористость.

Высокая эффективность разделения в ВЭЖХ обеспечивается высокой площадью поверхности частиц сорбента (которая является следствием их микроскопических размеров и наличия пор), а также равномерностью состава сорбента и плотной и равномерной его упаковкой.

Детектор

В ВЭЖХ используются различные способы детектирования. В общем случае подвижная фаза, покинувшая хроматографическую колонку, попадает в ячейку детектора, где непрерывно измеряется то или иное свойство элюента. Полученная на этом основании хроматограмма представляет собой график зависимости некоторого физического или физико-химического параметра подвижной фазы от времени.

Наиболее часто применяются спектрофотометрические детекторы (включая диодно-матричные), работающие в ультрафиолетовой (обычно от 190 нм до 400 нм) и видимой (от 400 нм до 760 нм) областях электромагнитного спектра. Хроматограмма в этом случае представляет собой зависимость оптической плотности подвижной фазы от времени.

Самые простые модели спектрофотометров работают при одной фиксированной длине волны – обычно 254 нм. Обычный спектрофотометрический детектор позволяет устанавливать произвольную длину волны. А современные диодно-матричные детекторы позволяют не только проводить детектирование сразу по нескольким длинам волн, но и моментально (без сканирования) получать ультрафиолетовый спектр элюента в любой момент времени, что значительно усиливает качественный анализ разделяемых компонентов. Одним из недостатков диодно-матричных детекторов является несколько более низкое по сравнению со спектрофотометрами с переменной или фиксированной длиной волны отношение “сигнал – шум”, что снижает возможности детектирования веществ в низких концентрациях.

В ряде случаев также применяются флуоресцентные детекторы, рефрактометры, электрохимические детекторы, масс-спектрометры, детекторы радиоактивности и некоторые другие.

Современные детекторы имеют достаточно высокую чувствительность, которая теоретически позволяет обнаруживать вещества в концентрациях до 10^{-12} г/мл (1 пг/мл) и ниже. Но большее значение имеет чувствительность хроматографической системы в целом, которая зависит от множества факторов, влияющих на стабильность базовой линии. К этим факторам относятся качество работы насосов

и системы подавления флуктуаций давления, стабильность работы электрических схем хроматографа, колебания напряжения в сети электропитания, качество растворителей и их соотношение в элюенте и др. Поскольку полностью исключить негативное влияние этих факторов невозможно, чувствительность метода ВЭЖХ всегда ниже возможностей детектора. Поэтому реально на современном жидкостном хроматографе можно детектировать вещества в концентрациях обычно до 10^{-6} – 10^{-7} г/мл (1 мкг/мл – 0,1 мкг/мл), редко – до 10^{-9} г/мл (1 нг/мл).

Подвижная фаза

В качестве подвижной фазы могут применяться разнообразные растворители – как индивидуальные, так и их смеси.

В нормально-фазовой хроматографии обычно применяют жидкие углеводороды (например, гексан, циклогексан) и другие относительно неполярные растворители.

В обращено-фазовой хроматографии в состав подвижной фазы входят полярные органические растворители (обычно ацетонитрил и/или метанол) и вода. Для оптимизации разделения часто используют водные растворы с определенным значением pH, в частности буферные растворы. Применяют добавки неорганических и органических кислот, оснований и солей и другие соединения (например, хиральные модификаторы для разделения энантиомеров на ахиральном сорбенте). Контроль значения pH необходимо осуществлять отдельно для водного компонента, а не для его смеси с органическим растворителем.

Подвижная фаза может состоять из одного растворителя, наиболее часто – из двух, при необходимости – из трех и более. Многокомпонентная подвижная фаза может готовиться как путем предварительного смешивания входящих в ее состав раствори-

телей, так и непосредственно во время анализа – в смесителе хроматографа. Состав подвижной фазы указывают как объемное соотношение входящих в нее растворителей и растворов. В отдельных случаях может указываться массовое соотношение, что должно быть специально оговорено.

В зависимости от постоянства состава элюента во время одного разделения (одной хроматограммы) различают изократический и градиентный режимы работы. В изократическом режиме соотношение отдельных компонентов подвижной фазы остается постоянным на протяжении всего анализа. В градиентном режиме состав элюента изменяется во время получения одной хроматограммы согласно заданной программе. Градиентное элюирование применяют в том случае, если изократический режим не позволяет достичь необходимого разделения за приемлемое время.

Применяемые растворители и добавки должны быть индифферентны по отношению к деталям хроматографа. На разделение большое влияние оказывает степень чистоты элюента, поэтому следует применять растворители, выпущенные специально для жидкостной хроматографии – высокой степени чистоты и обычно свободные от стабилизаторов. Для градиентного элюирования выпускаются растворители с соответствующей маркировкой.

На выбор растворителя влияет его прозрачность для детектора. Например, при использовании УФ-спектрофотометрического детектора применяемый элюент не должен иметь выраженного поглощения при выбранной для детектирования длине волны. В таблице 2 приведены пределы прозрачности наиболее распространенных в ВЭЖХ растворителей. При этом пределом прозрачности считается длина волны, при которой оптическая плотность слоя растворителя относительно воздуха равна 1,0. Предел прозрач-

Таблица 2

Свойства наиболее распространенных в ВЭЖХ растворителей

Растворитель	Диэлектрическая проницаемость при 25 °С	Предел прозрачности для слоя 1 мм / 10 мм, нм	Темп. кипения, °С	Относительная плотность d_4^{20} , г/см ³	Динамическая вязкость при 20 °С, мПа·с
Вода	78,3	187 / 191	100	0,998	1,0
Ацетонитрил	36,2	190 / 195	81,6	0,786	0,35
Метанол	33,6	200 / 205	64,5	0,791	0,58
Изопропиловый спирт	18,3	200 / 210	82,4	0,786	2,4
Хлороформ	4,70	230 / 245	61,1	1,48	0,57
н-Гексан	1,89	190 / 200	68,7	0,659	0,29

ности (или оптическая плотность при определенной длине волны) конкретного продажного растворителя часто указывается на упаковке, поскольку на этот параметр большое влияние оказывает степень чистоты.

Для анализа также большое значение имеет ряд других параметров: температура кипения (чем она выше, тем ниже вероятность газообразования в системе), плотность и вязкость (чем они меньше, тем ниже рабочее давление в системе, следовательно, меньше износ деталей хроматографа). Использование менее вязких растворителей также снижает сопротивление массопередаче в подвижной фазе, что уменьшает размывание хроматографических пиков и, следовательно, увеличивает эффективность разделения.

Элюирующую силу растворителя для нормально-фазового режима ориентировочно можно оценить по элюотропному ряду, составленному каким-либо автором. За редкими исключениями с увеличением полярности, которую можно оценить по диэлектрической проницаемости, элюирующая сила возрастает.

При использовании обращенно-фазового режима, наоборот, увеличение процентного содержания воды приводит к снижению элюирующей силы подвижной фазы, что отражается на увеличении времен удерживания анализируемых соединений. Увеличения силы элюента добиваются повышением содержания в подвижной фазе органического компонента (ацетонитрила, метанола).

По совокупности параметров наиболее выгодным растворителем для обращенно-фазового режима является ацетонитрил, однако в ряде случаев определенные соединения удастся разделить только с использованием метанола. Вода как второй компонент элюента в обращенно-фазовой хроматографии используется практически всегда.

Продажные органические растворители для жидкостной хроматографии не требуют предварительной подготовки. Воду и водные растворы (а также предварительно смешанные с водой органические растворители) необходимо подвергать тонкой фильтрации и дегазации. Приготовленные для анализа испытуемые растворы также необходимо перед введением в хроматограф фильтровать. Для этих целей обычно применяют фильтрование под вакуумом через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Термостатирование колонок

Большинство анализов в ВЭЖХ осуществляется при комнатной температуре. Однако температура окружающей среды подвержена колебаниям, что сказывается на разделении. Поэтому для получения более воспроизводимых результатов и для оптимизации разделения необходимо поддерживать температуру колонки и элюента на определенном уровне, для чего ко-

лонку помещают в устройство для термостатирования.

Влияние температуры на хроматографический процесс многогранно. С повышением температуры уменьшаются вязкость и плотность растворителей, как следствие снижается давление в системе. Диэлектрическая проницаемость растворителей также снижается, но ускоряются процессы массопереноса в колонке. В то же время, увеличивается вероятность газообразования в системе. Тем не менее, несмотря на отрицательные моменты, в некоторых случаях удастся добиться повышения эффективности разделения за приемлемое время, повысив температуру колонки до 30 – 50 °С.

Система сбора и обработки хроматографических данных

Регистрация хроматограмм может проводиться различными способами.

Наиболее простой вариант – поступление сигнала от детектора на самописец. В этом случае обработка хроматограммы осуществляется вручную. Соответственно, снижаются точность и воспроизводимость результатов анализа.

Более распространены системы автоматизированной обработки данных. Например, сигнал от детектора может поступать на устройство, совмещающее в себе функции самописца и обработчика хроматограмм. Такое устройство получили название “интегратор”.

В настоящее время простые самописцы и интеграторы вытесняются компьютерными системами обработки хроматографических данных. Сигнал от детектора поступает на сопряженный с хроматографом персональный компьютер с установленным программным обеспечением, позволяющим регистрировать и обрабатывать хроматограмму, а также часто осуществлять управление работой хроматографа и следить за основными параметрами хроматографической системы.

Указание условий хроматографирования в НД для ВЭЖХ

Описание условий хроматографирования должно включать в себя:

- размеры колонки;
- вид и размер частиц сорбента;
- температура колонки, если необходимо термостатирование;
- состав подвижной фазы (растворители, их соотношение, значение рН водного компонента, добавки и др.), а также способ приготовления растворов, входящих в состав подвижной фазы;
- описание градиента, если необходимо;
- скорость потока;
- /0 детектор и условия детектирования (например, длина волны);

– объем вводимой пробы.

При необходимости описание условий хроматографирования может быть более подробным.

Концентрация испытуемого раствора

За предел детектирования пика принимают соотношение “сигнал-шум”, равное 3. За предел количественного определения пика принимают соотношение “сигнал-шум”, равное 10. При установлении подлинности и количественном определении необходимо избегать концентраций испытуемых растворов, дающих пики, соответственно, на уровне предела детектирования или предела количественного определения.

Также при установлении подлинности и количественном определении не допускается использовать очень высокие концентрации испытуемых растворов, дающие пики на верхнем пределе возможностей детектора или превышающие их.

При анализе чистоты для обнаружения примесей допускается использование испытуемых растворов в высоких концентрациях. Если для оценки содержания примесей используется метод внутренней нормализации, пик основного вещества не должен превышать возможности детектора.

Если для оценки чистоты используются стандартные образцы примесей, допускается “зашкаливание” пика основного вещества. Однако при этом следует учитывать, что очень большие концентрации могут приводить к “перегрузке” аналитической колонки и искажению результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственная фармакопея СССР XI: Выпуски 1, 2: репринтное издание, Тимотек, Москва (1998).
2. European Pharmacopoeia, 4th ed. (2002).
3. The United States Pharmacopoeia, 26th revision (2003).