

ПРИМЕНЕНИЕ КАПИЛЛЯРНОГО ЗОНАЛЬНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАТИОНОВ КАЛИЯ, КАЛЬЦИЯ, НАТРИЯ И МАГНИЯ В РАСТВОРАХ ДЛЯ ИНФУЗИЙ

А. Д. Малинкин

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова.
Поступила в редакцию 08.04.2012 г.

Аннотация. Разработана методика качественного и количественного анализа катионов калия, натрия и магния, а также качественного и полуколичественного анализа катионов кальция с использованием катионов лития в качестве внутреннего стандарта в растворах для инфузий методом капиллярного зонального электрофореза. Оценено влияние pH и концентрации фонового вещества – имидазола на разделение катионов. Подобраны оптимальные значения данных параметров буферного раствора.

Ключевые слова: капиллярный электрофорез, капиллярный зональный электрофорез, инфузионные растворы, определение катионов.

Abstract. The method of qualitative and quantitative analysis of potassium, sodium, magnesium cations and the qualitative and semi-quantitative analysis of calcium cations by capillary zone electrophoresis with lithium cations as internal standard was developed for analysis of solutions for infusions. The effect of pH and concentration of background electrolyte - imidazole on the separation of cations was evaluated. The optimal values of these parameters were determined.

Keywords: capillary electrophoresis, capillary zone electrophoresis, solutions for infusions, determination of cations.

ВВЕДЕНИЕ

Растворы для инфузий являются широко распространенными лекарственными средствами для детоксицирующей, плазмозамещающей и восстановительной терапии. Особенностью данных лекарственных препаратов является их введение в значительных объемах парентеральным способом, что обуславливает необходимость тщательного контроля их безопасности и качества, в том числе определения катионов калия, кальция, натрия и магния, как основных действующих веществ.

В настоящее время для определения катионов калия, натрия, кальция и магния используются методы пламенной фотометрии и метод комплексонометрии, которые обладают рядом недостатков. Общим недостат-

ком данных методов является невозможность одновременного определения нескольких катионов.

Метод капиллярного электрофореза как фармакопейный метод анализа описан в ряде зарубежных фармакопей. Общая фармакопейная статья (ОФС) «Капиллярный электрофорез» представлена для включения во 2-ую часть Государственной Фармакопеи РФ двенадцатого издания. Данный метод обладает следующими преимуществами [1-3]: возможность одновременного совместного определения указанных катионов, простота подготовки пробы, небольшое время, затрачиваемое на анализ, возможность автоматизации. Однако присутствуют следующие недостатки: необходимость сравнительно точного воспроизведения состава буферного раствора, возможные значительные отклонения при вводе пробы, что компенсируется ис-

© Малинкин А. Д., 2013

пользованием внутреннего стандарта.

Целью нашей работы являлась разработка методики определения катионов калия, натрия, кальция и магния методом капиллярного зонального электрофореза в растворах для инфузий.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Исследование проводили на системе для капиллярного электрофореза Agilent 3D CE (США) с диодно-матричным детектором и программным обеспечением Agilent «Chemstation B.04.03» (США).

Разделение осуществляли на капилляре с общей длиной 64,5 см, эффективной длиной – 56 см, внутренним диаметром - 50 мкм с увеличенным оптическим путем (Agilent G1600-61232, США).

Реактивы: натрия хлорид (х.ч.), калия хлорид (х.ч.), кальция хлорид (ч.), магний хлористый 6-водный (х.ч.), лития ацетат 2-водный (х.ч.), вода деионизированная (сопротивление 18 МОм), 18-краун-6 эфир ($\geq 99\%$, получен от Sigma-Aldrich), имидазол ($\geq 99,5\%$, получен от Sigma-Aldrich), кислота муравьиная (х.ч.).

Объекты исследования.

Растворы для инфузий: «Трисоль» (ОАО «Биохимик», серия 220410), «Рингер» (ОАО «Биохимик», 160410), «Мафусол» (ОАО «Биосинтез», 40511), «Квинтасоль» (ОАО «Биосинтез», 30911), «Раствор Хартмана» («Хемофарм А.Д.», 1900126).

Условия разделения.

Приготовление рабочего буферного раствора: 136 мг имидазола (навеска с точностью до 1 мг), 8,5 мг 18-краун-6 эфира помещали в мерную колбу на 100 мл, добавляли около 60 мл воды, перемешивали до полного растворения, доводили рН до 3,6 кислотой муравьиной, затем доводили водой до метки, полученный раствор перемешивали.

Ввод пробы: гидродинамический в течение 4 секунд при давлении 50 мбар. Напряжение: 25 кВ. Детектирование проводилось на длине волны 210 нм, длина волны сравнения - 350 нм.

Подготовка проб.

1 г образца (с точностью до 0,01 г) поме-

щали в мерную колбу на 10 мл, прибавляли 200 мкл раствора ацетата лития с содержанием ионов лития 0,05 %, затем доводили водой до метки, перемешивали.

Для определения оптимальной концентрации имидазола, правильности и оптимального значения рН использовался раствор, содержащий по 0,05 % каждого катиона.

Для определения линейности использовались растворы, полученные разбавлениями раствора, содержащего: катионов калия – 0,3 %, катионов кальция – 0,1 %, катионов натрия – 1 %, катионов магния – 0,1 %. Выбор данного соотношения обусловлен концентрациями катионов в исследуемых растворах. Исследования линейности и анализы объектов проводились в диапазонах (концентрации катионов в пробах после разбавления): 10,2 - 57,7 мг/л (катионы калия), 3,54 – 20 мг/л (катионы кальция), 123 – 696 мг/л (катионы натрия), 0,7 - 3,97 мг/л (катионы магния).

Выбор катионов лития в качестве внутреннего стандарта обусловлен сравнительно низкой электрофоретической подвижностью данных катионов и, вследствие этого, хорошим разрешением с исследуемыми катионами.

При расчетах использовалось частное отношения площади пика к времени миграции. Использование указанного соотношения связано с различным детектированием ионов с разной электрофоретической подвижностью (ионы с более низким значением электрофоретической подвижности проходят мимо зоны детектирования медленнее).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Поскольку определяемые вещества не обладают необходимым поглощением в ультрафиолетовой (далее УФ) и видимой областях спектра электромагнитного излучения, мы использовали не прямое УФ детектирование - зоны веществ регистрируются как области с пониженной концентрацией поглощающего вещества. Для этой цели, с учетом литературных данных [2], был выбран имидазол, так как помимо необходимого УФ-поглощения он обладает электрофоретической подвижно-

стью, близкой к исследуемым катионам (что уменьшает размывание зон этих катионов при анализе) [3-5].

Для выявления оптимальной концентрации имидазола были проведены исследования рабочих буферных растворов с концентрацией имидазола 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 ммоль/л (см. рисунок 1).

Оптимальной оказалась концентрация имидазола около 15-20 ммоль/л. При низких концентрациях не достигается необходимого разделения катионов магния и натрия, присутствует нестабильность базовой линии. При высоких концентрациях происходит значительное возрастание шума, наблюдается нестабильность базовой линии, потеря эффективности в результате избыточного Джоулева разогрева и нарушается разделение катионов кальция и натрия.

Значение pH рабочего буферного раствора было подобрано как близкое к рКа муравьиной кислоты (рКа = 3,75) для обеспечения необходимой буферной емкости, стабильности системы, а также для перевода определяемых веществ и имидазола в ионную форму.

Для исследования зависимости разделения от pH рабочего буферного раствора была проанализирована смесь катионов с использованием буферных систем с различными значениями pH. В диапазонах pH 3,0 - 3,5; 4,5 - 6,0 наблюдалась нестабильность базовой линии. При возрастании pH наблюдается уменьшение времен миграции, вследствие

увеличения скорости электроосмотического потока.

Добавление в буферный раствор 18-краун-6 эфира использовалось для повышения селективности системы, в частности для обеспечения разделения катионов аммония и калия.

В ходе испытаний линейности методики в диапазонах исследуемых концентраций полученные коэффициенты достоверности аппроксимации были определены как $\geq 0,99$ (должны составлять $\geq 0,99$ [6]) во всех случаях кроме катионов кальция (коэффициент составил 0,988). Результаты исследования правильности при использовании одного и того же рабочего буферного раствора укладывались в пределы норм [6].

Результаты количественного анализа катионов кальция, калия и натрия были получены по расчетам с использованием метода внутреннего стандарта, расчет содержания катионов магния проводили методом абсолютной калибровки, поскольку в этом случае достигалась большая точность получаемых результатов.

Разработанная методика была апробирована на образцах растворов для инфузий, результаты представлены в таблице 1.

Из полученных данных определения линейности и анализа инфузионных растворов видно, что наибольшие отклонения получены в отношении катионов кальция, что обусловлено двойным зарядом и, вследствие этого,

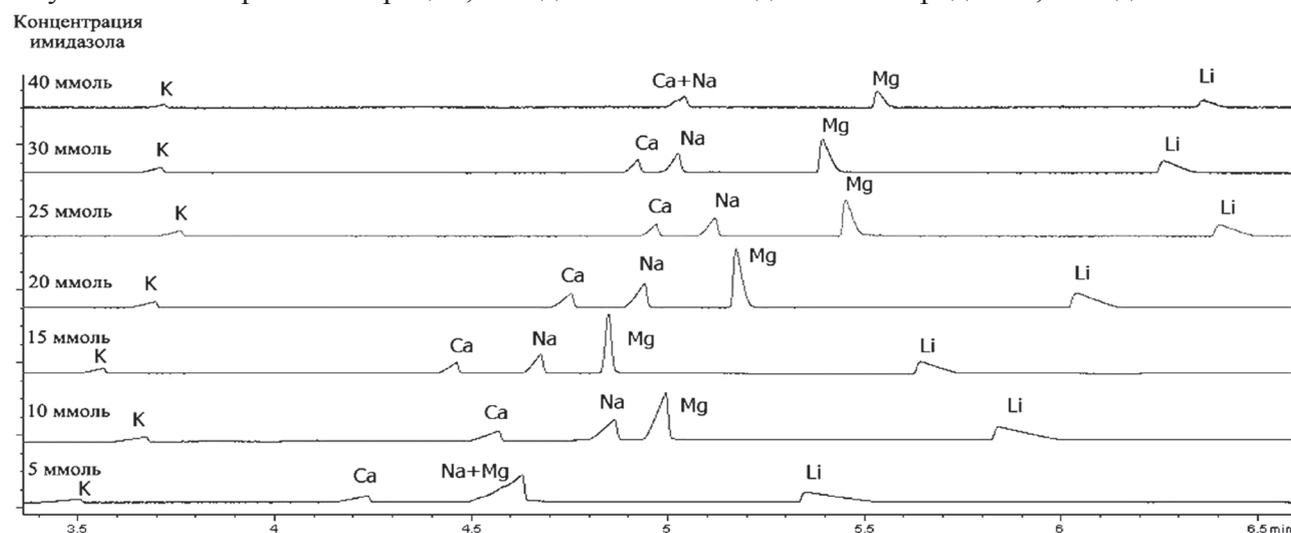


Рис. 1. Зависимость электрофоретического поведения исследуемых катионов от концентрации имидазола.

Результаты исследования инфузионных растворов.

Наименование	Нормы, %				Обнаружено, %			
	K ⁺	Ca ²⁺	Na ⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Na ⁺	Mg ²⁺
Раствор для инфузий «Квинтасоль»	0,0156-0,0235	0,00922-0,0112	0,23-0,354	0,0034-0,00413	0,0194	0,0155	0,301	0,00376
Раствор для инфузий «Трисоль»	0,042-0,063	-	0,24-0,37	-	0,0488	-	0,305	-
«Раствор Рингера» для инфузий	0,0125-0,0188	0,0076-0,01	0,3048-0,3726	-	0,0116	0,0109	0,278	-
«Раствор Хартмана» для инфузий	0,0185-0,0205	0,0076-0,0084	0,2862-0,3164	-	0,0186	0,0115	0,301	-
Раствор для инфузий «Мафусол»	0,0133-0,018	-	0,58-0,708	0,00248-0,00335	0,013	-	0,625	0,00384

достаточно интенсивным взаимодействием со стенкой капилляра, а также размыванием зоны из-за различия в электрофоретических подвижностях с имидазолом. Однако данная методика позволяет осуществить качественный и полуколичественный анализ катионов кальция.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика качественного и количественного определения катионов калия, натрия и магния с использованием катионов лития в качестве внутреннего стандарта в растворах для инфузий методом капиллярного зонального электрофореза.

Оценено влияние изменений значений рН рабочего буферного раствора, концентрации фонового вещества – имидазола (при использовании капилляра с внутренним диаметром 50 мкм) на эффективность разделения и соотношение сигнал/шум. Подобраны оптимальные значения данных параметров буферного раствора.

На основании оценки некоторых параметров валидации (правильность, линейность, минимальная обнаруживаемая концентрация) можно сделать вывод о достаточных метрологических характеристиках методики для количественного анализа катионов калия, магния, натрия и полуколичественного анализа катионов кальция.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богачук М.Н. Определение водорастворимых витаминов в поливитаминных препаратах методом капиллярного зонального электрофореза / М.Н. Богачук, О.И. Передеряев, Г.В. Раменская // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2011. — № 9. — С. 14-22.
2. Beck W. Capillary Electrophoresis of Organic and Inorganic Cations with Indirect UV Detection / W. Beck., H. Engelhardt // Chromatographia. — 1992. — V. 33., № 7/8. — P. 313-316.
3. Capillary electrophoresis methods for pharmaceutical analysis / Edited by S. Ahuja, M.I. Jimidar. — Boston: Elsevier/Academic, 2008.
4. Руководство по капиллярному электрофорезу / Под ред. А.М. Волощука. М.: Научный совет Российской академии наук по хроматографии, 1996. — 111 с.
5. Beckers J. L. The preparation of background electrolytes in capillary zone electrophoresis: Golden rules and pitfalls / J. L. Beckers, P. Bocek // Electrophoresis. — 2003. — V. 24, — P. 518-535.
6. Валидация аналитических методов исследования / Л. Р. Давлетбаева и др. // Медицинские иммунобиологические препараты в XXI веке: разработка, производство и применение.: Матер. Всеросс. конф. Ч. 1. — Уфа. — 2005. — С. 34-47.

Малинкин Алексей Дмитриевич — аспирант кафедры фармацевтической и токсикологической химии Первого московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, email: sindar7@mail.ru

Malinkin Alexey D. — post graduate student, department of pharmaceutical and toxicological chemistry, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, email: sindar7@mail.ru