

Анализ вспомогательных веществ методом ГПХ (ЭХ) и другими методами ЖХ

Сборник технической информации

Авторы

Грег Сондерс (Greg Saunders), Бен МакКрит (Ben MacCreath)
Agilent Technologies, Inc.



Содержание

Стр.

Изучение вспомогательных веществ	3
Связующие вещества	5
Поливинилпирролидон	5
Полиэтиленгликоль	7
Пектин	9
Хитозан.....	11
Метилцеллюлоза	12
Покрытия	13
Желатин	13
Ацетат целлюлозы	14
Разрыхлители	15
Карбоксиметилцеллюлоза	15
Циклодекстрин	16
Доставка лекарственных веществ	18
Поликапролактam	18
Поли(лактид-ко-гликолид)	19
Наполнители	21
Спирты высшей атомности	21
Суспендирующие вещества или увеличивающие вязкость вещества	23
Гидроксиэтилцеллюлоза	23
Другие технологические решения компании Agilent для анализа вспомогательных веществ	25
Порядок оформления заказа и дополнительная литература	27

Компания Polymer Laboratories была основана в 1976 году с целью производства высококачественных колонок, стандартов, приборов и программного обеспечения для ГПХ (ЭХ). В течение более 30 лет компания разрабатывала самое разнообразное передовое оборудование, в том числе колонки PLgel, PL aquagel-OH, PlusPore, PLgel Olexis, PolarGel и стандарты EasiVial. Созданное по собственной современной технологии производства, оборудование компании PL высоко ценится за качество и рабочие показатели, дополненные службой технической поддержки мирового класса.

С момента приобретения PL компания Agilent предлагает еще более широкий диапазон технологических решений ГПХ (ЭХ) для исследования всех типов синтетических и биомолекулярных полимеров с вариантами оборудования как для традиционной ГПХ, так и для анализа сложных составов с использованием нескольких колонок и разных методов детектирования.

Изучение вспомогательных веществ

Обычно вспомогательными веществами были инертные вещества, применяемые в фармацевтических и косметических составах как среда для активных ингредиентов. Самым основным назначением вспомогательных веществ было увеличение размеров таблеток или капсул до удобных, так как активное вещество присутствует в лекарствах в очень малых количествах. Так обычное болеутоляющее может содержать 80 процентов и более инертного наполнителя. Другие вспомогательные вещества облегчают введение или усвоение активных ингредиентов, или делают их более приятными на вкус, или придают окраску, чтобы облегчить распознавание. Кроме этих важных для пациентов качеств, вспомогательные вещества могут использоваться при производстве, чтобы облегчить работу с активными веществами, например, не давая им вступать в контакт с деталями машин или разлагаться в процессе производства или хранения. В качестве вспомогательных веществ используются соединения разных классов, в том числе синтетические и природные полимеры, сахараиды и белки. Однако в разных составах похожие соединения могут выполнять разные функции. Так, карбоксиметилцеллюлоза используется как связующее, суспендирующее и дезинтегрирующее вещество.

В прошлом вспомогательные вещества рассматривались как дешевые и инертные компоненты, единственным назначением которых было служить средой для активных веществ. Однако сейчас существует понимание того, что они могут влиять на скорость и степень усвоения активных веществ. Более того, наблюдается сдвиг от синтетических вспомогательных веществ, разрешение на применение которых от контролирующих органов бывает сложно получить, в сторону «природных» соединений, которые потенциально менее токсичны, более доступны, дешевы и более приемлемы для потребителей в наше время опасений за здоровье, связанных с синтетическими продуктами.

Следовательно, важность вспомогательных веществ привела к тому, что в фармацевтической отрасли начали проводиться обширные исследования с целью улучшения их эффективности. Ниже представлены некоторые вспомогательные вещества, появившиеся на рынке с 2006 года¹.

- Модифицированные вспомогательные вещества: Polyplasdone Ultra (ISP), Lutrol micro 68 & 127; Kollidon CL-F & CL-SF (all BASF), Swelstar MX 1 (Asahi Kasei), GalenIQ 721 (Palatinit).
- Копроцессинговые вспомогательные вещества: Spectrablend HS (Sensient), Prosolv ODT (JRS), Ludiflash (BASF), Aquarius (Ashland), Avicel DG (FMC), Sepitrap (Seppic), Starcap 1500 (Colorcon).
- Новые вспомогательные вещества: Solutol HS 15, Soluplus, Kollicoat Smartseal 30 D (все BASF).

Точная природа и состав многих вспомогательных веществ считаются коммерческой тайной. Однако соблюдение коммерческой тайны при использовании данных соединений имеет последствия для фармацевтических компаний с точки зрения обеспечения качества, особенно в связи с новыми нормативными требованиями. Например, согласно ICH M4Q (Quality)², теперь для новых вспомогательных веществ требуется описание их функциональности (фармацевтическая оценка и принцип доставки лекарственных средств) и физикохимии (физико-химические свойства и наличие примесей).

¹ Товарные знаки являются собственностью соответствующих владельцев.

² Общий технический документ по регистрации лекарственных средств для человека: Качество — M4Q(R1). Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных средств для человека. Женева, Швейцария.

Концепция «качество на этапе разработки» в фармацевтике

Концепция «качество на этапе разработки» (Quality by Design, QbD) была разработана Дж. М. Джураном (JM Juran) в течение последних 20 лет. Идея Джурана заключалась в том, что планирование качества продукции должно стать частью производственного процесса, т. е. процессы должны изначально продумываться таким образом, чтобы проблемы обеспечения качества решались на стадии разработки. Фактически разработка продукции была основана на контроле факторов риска с точки зрения обеспечения качества. Концепция QbD была принята Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США в 2002 году³ и продолжает уточняться. О постоянной потребности в QbD в фармацевтической отрасли говорит 300-процентное увеличение числа случаев отзыва с рынка фармацевтической продукции с 2008 по 2009 годы. В некоторых из этих случаев причиной могли быть проблемы со вспомогательными веществами. Однако производители могли предоставить конечным пользователям только паспорта безопасности веществ, не содержащие информации об их характеристиках. Это, разумеется, привело к тому, что фармацевтические компании стали применять QbD, так как для обеспечения качества необходимо иметь хорошее представление о характеристиках всех компонентов лекарственного средства.

Компания Agilent имеет большой опыт анализа вспомогательных веществ методом гель-проникающей хроматографии (ГПХ, также называемой «эксклюзионной хроматографией» или сокращенно ЭХ). Гель-проникающая хроматография — это важный метод оценки распределения молекулярной массы полимеров, составляющих вспомогательное вещество, так как молекулярная масса влияет на многие физические характеристики этих веществ. Следовательно, если распределение молекулярной массы выше или ниже требуемого, это говорит о том, что на практике поведение полимера будет иным, чем требуется.

В данном сборнике описаны самые разные прикладные задачи, иллюстрирующие принципы технологических решений, предлагаемых компанией Agilent для анализа вспомогательных веществ. Хотя основное внимание уделяется ГПХ (ЭХ), для определенных задач необходимы ВЭЖХ, градиентная элюентная хроматография полимеров, а также жидкостная хроматография в критических условиях.



³ «Фармацевтическое качество в XXI веке. Подход, основанный на анализе рисков». Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, США.

Связующие вещества

Вспомогательные связующие вещества не дают таблеткам рассыпаться. Они придают им механическую прочность, и таблетки не ломаются во время производства, транспортировки, хранения и приема. Кроме того, связующие вещества добавляют в малых дозах активных веществ.

Поливинилпирролидон

Вспомогательное вещество поливинилпирролидон (ПВП) применяется более, чем в сотне лекарственных средств. Оно доступно в трех формах: растворимый повидон, нерастворимый кроссповидон и коповидон, растворимый в воде сополимер винилпирролидона и винилацетата. Хотя повидон используется, главным образом, как связующее вещество для таблеток, он также применяется как вещество, способствующее растворению и препятствующее слеживанию и комкованию, как диспергирующий агент и стабилизатор для чувствительных к высокой температуре активных веществ. Кроссповидон — это солиubilизатор со свойствами суперразрыхлителя, используемый для диспергирования твердых фармацевтических средств орального применения после их проглатывания и повышения скорости всасывания. Коповидон также является связующим веществом, которое применяется для влажной и сухой грануляции.

Повидон растворим в полярных органических растворителях и воде. В данном примере, для уменьшения эффекта полиэлектролита, используется диметилформамид (ДМФА) с бромистым литием. При использовании рефрактометрического детектора и ДМФА в качестве элюента, пик получается сравнительно небольшим. Хорошую хроматограмму для поливинилпирролидона можно получить с помощью колонок Agilent PLgel 10 мкм MIXED-B (рисунок 1).

Колонки: 2 шт. PLgel 10 мкм MIXED-B, 300 × 7,5 мм (Кат. № PL1110-6100)
Элюент: ДМФА + 0,1% LiBr
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Темп.: 70°C
Система: Аналитическая система для ГПХ (ЭХ)
1260 Infinity GPC/SEC Analysis System (RI)

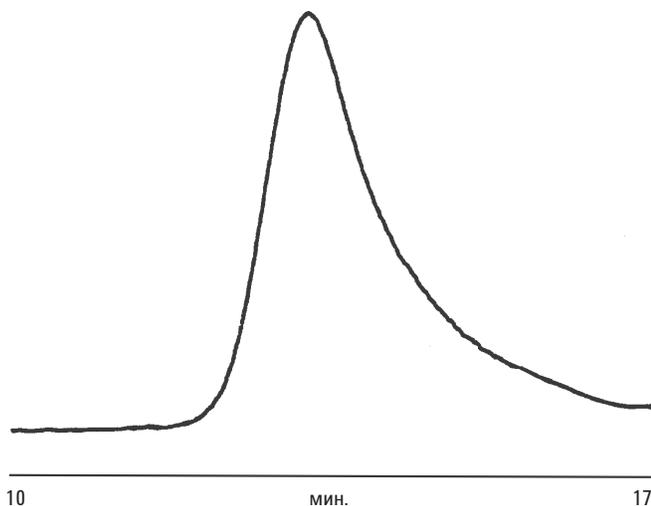


Рисунок 1. Анализ поливинилпирролидона с помощью колонок Agilent PLgel 10 мкм MIXED-B

Поливинилпирролидон также применяется в средствах личной гигиены. В данном примере, ПВП был одним из компонентов мыла, растворимым в полярном элюенте, диметилацетамиде (ДМАА). Он был успешно проанализирован с помощью колонок PLgel 10 мкм MIXED-B (рисунок 2). Был получен широкий пик, характерный для пробы полидисперсного вещества.

Колонки: 3 × PLgel 10 мкм MIXED-B, 300 × 7,5 мм (Кат. № PL1110-6100)
Элюент: ДМАА + 0,5% LiBr
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Загрузка: объемно-весовая концентрация 0,2%, 100 мкл
Темп.: 60°C
Система: Аналитическая система для ГПХ (ЭХ)
1260 Infinity GPC/SEC Analysis System (RI)

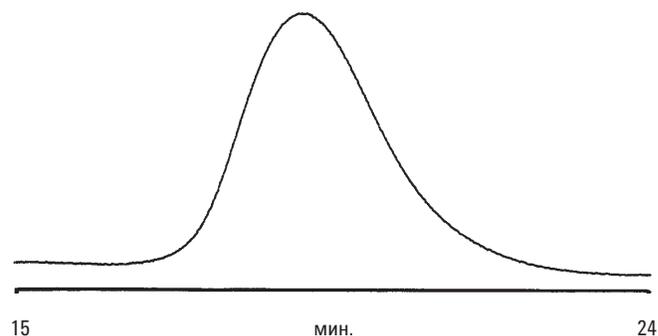


Рисунок 2. Поливинилпирролидон при анализе на комплекте из трех колонок Agilent PLgel 10 мкм MIXED-B

Как было упомянуто на стр. 5, поливинилпирролидон растворим в водных растворителях, а также в полярных органических растворителях. На рисунке 3 показана хроматограмма пробы с широким распределением, как и ожидалось для материала подобного типа.

Колонки: Agilent PL aquagel-OH 60 8 мкм, 300 × 7,5 мм
(Кат. № PL1149-6860)
PL aquagel-OH 50 8 мкм, 300 × 7,5 мм
(Кат. № PL1149-6850)
Элюент: 0,2 М NaNO₃ + 0,01 М NaH₂PO₄ при pH 3
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Темп.: 50°C
Система: Комплексная система для ГПХ (ЭХ)
Agilent PL-GPC 50 Integrated GPC/SEC System (RI)

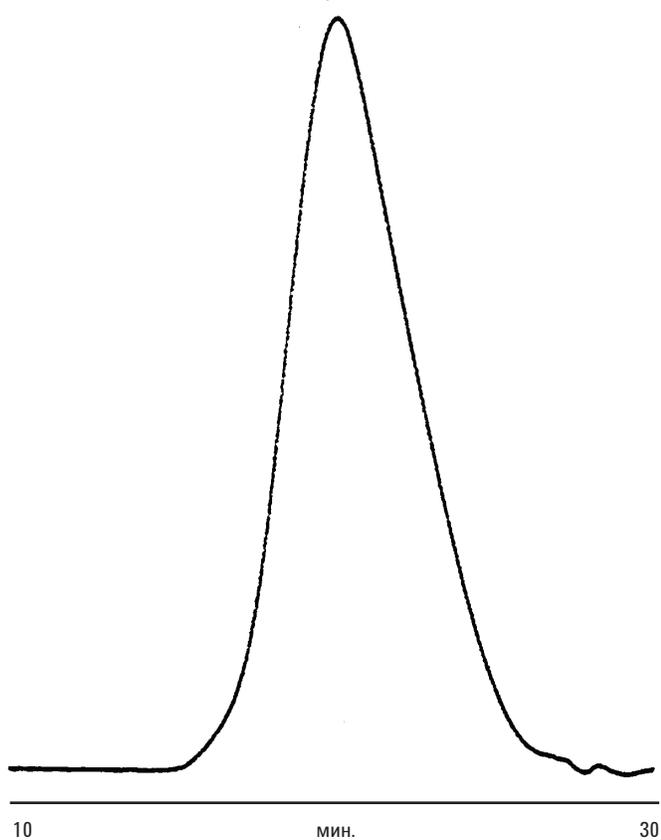


Рисунок 3. Необработанная хроматограмма поливинилпирролидона в водном растворителе, демонстрирующая широкое распределение, и полученная с помощью колонок Agilent PL aquagel-OH



Комплексная система для ГПХ (ЭХ)
Agilent PL-GPC 50 Integrated GPC/SEC System

Полиэтиленгликоль — методом жидкостной хроматографии в критических условиях

Полиэтиленгликоль (ПЭГ) широко используется в фармацевтических препаратах и средствах личной гигиены. Разновидности с более низкой молекулярной массой применяются как растворители в жидкостях и мягких капсулах. Твердые разновидности ПЭГ используются как основа для мазей, как связующие вещества, пленочные покрытия и смазки.

Жидкостная хроматография в критических условиях (ЖХКУ), или хроматография критической точки — это технология, используемая для изучения очень тонких различий между химическим строением таких полимеров, как ПЭГ. Эти различия могут возникнуть за счет применения сомономеров или добавления функциональности концевых групп. Традиционные варианты хроматографии часто нечувствительны к небольшим изменениям в строении вещества, поэтому предпочтительным методом для подобных анализов стала хроматография критической точки.

При гель-проникающей хроматографии крупные молекулы элюируются раньше маленьких молекул, так как они не проникают в пористый материал наполнителя. И наоборот, при таких вариантах хроматографии, где происходит взаимодействие, крупные молекулы элюируются после маленьких молекул, так как они взаимодействуют с материалом наполнителя колонки в большей степени. Критическая точка — это условия элюента, которые способствуют балансу между ЭХ и механизмами взаимодействия, так что молекулы элюируются при одинаковом времени удерживания, вне зависимости от молекулярного веса. В критической точке небольшие изменения в химической структуре, такие как тип концевой группы, могут стать причиной больших изменений в картине элюирования.

ЖХКУ полезна для анализа наличия полиэтиленгликоля, модифицированного концевыми амино-группами. Химическое строение исходного и модифицированного ПЭГ показано на рисунке 4.

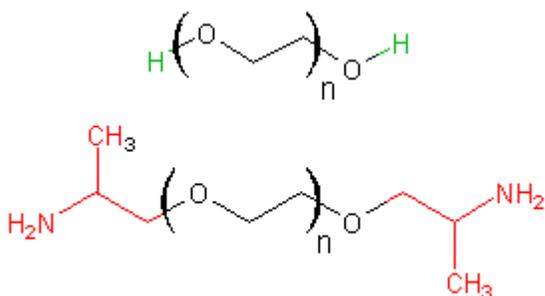


Рисунок 4. Химическое строение исходного (сверху) и модифицированного (снизу) полиэтиленгликоля

Условия критической точки для ПЭГ были установлены путем анализа нескольких стандартов ПЭГ с узким молекулярно-массовым распределением и разной молекулярной массой с применением ацетонитрила и воды в разных изократических комбинациях. ГПХ (ЭХ) анализ ПЭГ настолько хорошо освоен, что его часто используют в качестве стандартного при калибровке колонок, применяемых в данных методах. На рисунке 5 показаны хроматограммы стандартов, полученные методом ЭХ в режиме обращенной фазы, а также в критической точке, где элюирование не зависит от молекулярной массы.

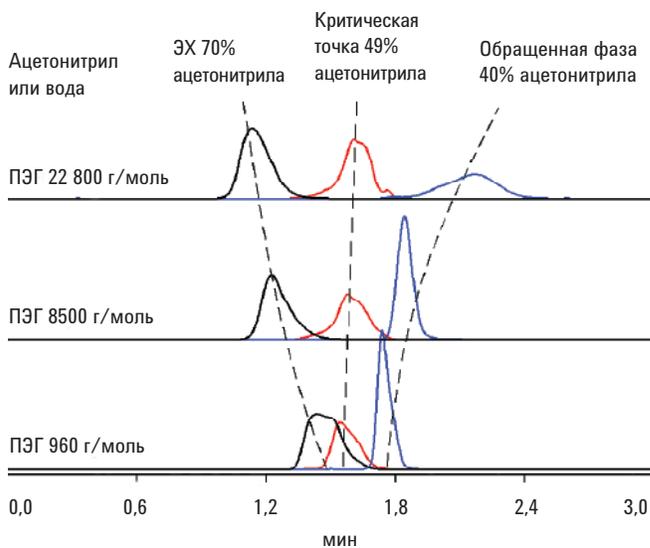


Рисунок 5. Результаты анализа полиэтиленгликоля методом ЭХ и в обращенно-фазовом режиме с целью выявления критической точки

На рисунке 6 показана хроматограмма ПЭГ, модифицированного амином, до и после нейтрализации функциональности амина соляной кислотой.

Колонка: Agilent PLRP-S 100Å 5 мкм, 150 × 4,6 мм
(Кат. № PL111-3500)
Элюент: 49% ацетонитрила в воде
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Ввод. объем: 20 мкл
Детектирование: ИДСР Agilent 380-LC

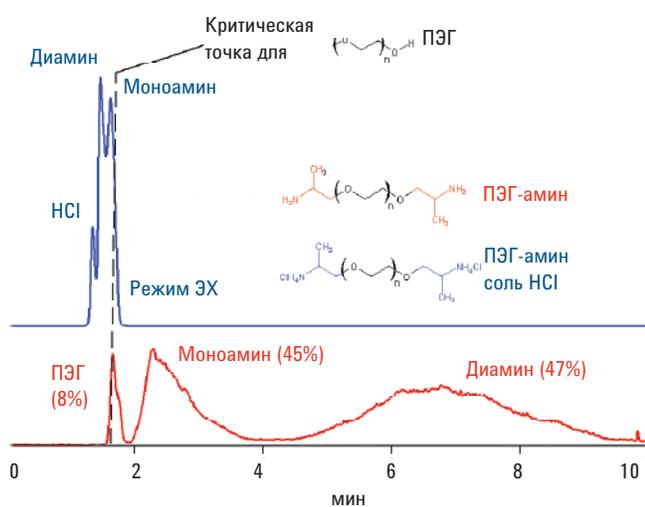


Рисунок 6. Модифицированный амином полиэтиленгликоль до (внизу) и после (сверху) нейтрализации соляной кислотой

Перед добавлением кислоты наблюдался один пик в точке предела проникания (соответствующий немодифицированному ПЭГ) и два пика элюирования наблюдались в режиме взаимодействия (после полного проникания колонки). Два пика элюирования в режиме взаимодействия были приписаны ПЭГ, модифицированным концевыми моно- и диамино-группами. Исходя из площади пиков, соотношение компонентов было определено как 8% ПЭГ, 45% моноамина и 47% диамина. Добавление соляной кислоты изменило элюирование на режим ЭХ (элюирование до пика ПЭГ), что говорит о чувствительности хроматографии к химическому составу пробы в критических условиях.



Испарительные детекторы светорассеяния Agilent 385-LC и 380-LC

Пектин

Пектин — это натуральный продукт, используемый для покрытия капсул. Он производится из растительного сырья, такого как яблоки, цитрусовые и свекла. Экстракт перерабатывается с целью извлечения пектинов, обладающих определенными свойствами. Хотя практическое применение пектина определяется его химическим составом, его реологические свойства являются критическими для применения, поэтому установление молекулярно-массового распределения способно помочь при прогнозировании этих свойств. Эксклюзивная хроматография и колонки Agilent PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм идеальны для разложения пектинов на составляющие. Обладая широким диапазоном разрешения по молекулярной массе (до 10 миллионов г/моль относительно ПЭО/ПЭГ) и имея высокую эффективность (>35 000 ЧТТ/м), колонки PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм являются предпочтительным выбором для данной задачи.

Пробы пектина подготовили в концентрации 2 мг/мл, оставили на ночь для полного растворения и отфильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Комплект колонок был откалиброван по стандартам пуллулана, имеющим узкое молекулярно-массовое распределение и, следовательно, все указанные значения молекулярной массы относятся к ним. Калибровочная кривая показана на рисунке 7.

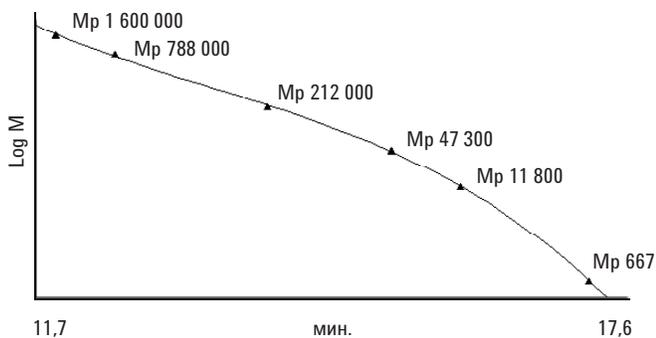


Рисунок 7. Калибровочная кривая по стандарту пуллулана для колонки Agilent PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм

Необработанные хроматограммы образцов пектина представлены на рисунке 8.

Колонки: 2 шт. PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм, 300 × 7,5 мм (Кат. № PL1149-6800)
Элюент: 0,2 М NaNO₃ + 0,01 М NaH₂PO₄ при pH 7
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Темп.: 50°C
Система: Комплексная система для ГПХ (ЭХ) PL-GPC 50 Integrated GPC/SEC System (RI)

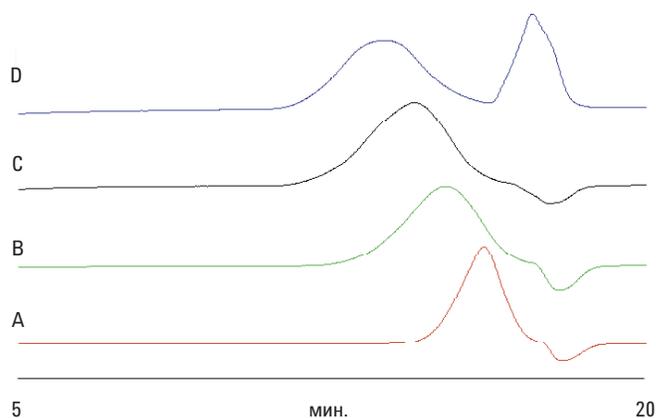


Рисунок 8. Хроматограммы четырех образцов пектина, полученные на колонках Agilent PL aquagel-OH MIXED

Графики молекулярно-массового распределения с наложением показаны на рисунке 9.

Колонки: 2 шт. PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм, 300 × 7,5 мм (Кат. № PL1149-6800)
 Элюент: 0,2 М NaNO₃ + 0,01 М NaH₂PO₄ при pH 7
 Скорость потока: 1,0 мл/мин
 Темп.: 50°C
 Система: Комплексная система для ГПХ (ЭХ) PL-GPC 50 Integrated GPC/SEC System (RI)

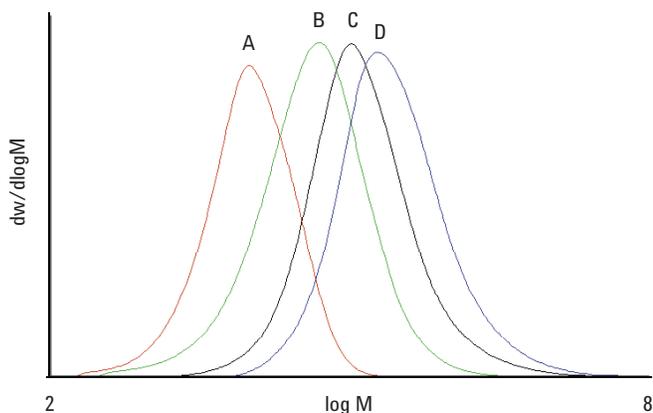


Рисунок 9. Распределение молекулярной массы четырех пектинов

В отличие от других образцов, образец D дает четкий положительный пик примерно в точке, соответствующей пределу проникания. Это образец медленно схватывающегося типа, содержащий буферные соли, добавленные для изменения ее свойств. В таблице 1 даны средние значения молекулярной массы для этих образцов.

Таблица 1. Средняя молекулярная масса и полидисперсность четырех образцов пектина

Проба	Средняя молекулярная масса		Полидисперсность (Mw/Mn)
	Mn	Mw	
A	6 520	17 560	2,7
B	21 720	88 480	4,1
C	67 980	243 120	3,6
D	128 360	459 990	3,6

Образцы различаются по молекулярной массе и полидисперсности (Mw/Mn).

Так как колонки PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм работают в очень широком диапазоне значений молекулярной массы, они особенно подходят для анализа водорастворимых полимеров с молекулярной массой от средней до высокой. При применении для анализа пектинов в качестве элюента простого буферного раствора взаимодействие между образцом и колонками снижается, давая хорошие результаты анализа.

Хитозан

Хитозан — это природный полисахарид, образующийся при щелочном N-деацетилировании хитина. Он считается вторым по распространенности в природе веществом после целлюлозы. Термин «хитозан» относится не к одному конкретному соединению, а к целому семейству сополимеров с разным количеством ацетилированных звеньев, содержащих мономеры хитина и хитозана. Основным интерес к хитозану обусловлен его катионным поведением в кислых растворах, что делает его уникальным по сравнению с другими полисахаридами, которые обычно являются нейтральными или несут отрицательный заряд. В фармацевтике хитозан применяется как биомедицинский препарат (например, для заживления ран, лечения ожогов и как кровоостанавливающее средство), при прессовании таблеток, для улучшения распадаемости и растворения, а также в качестве средства для контролируемого высвобождения активного вещества.

ГПХ (ЭХ) может использоваться как средство контроля качества для определения молекулярной массы и молекулярно-массового распределения хитозана. Поэтому был проведен анализ трех типов хитозана на комплекте из двух колонок Agilent PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм. Так как образцы имели катионную природу, они были подготовлены в сильной кислоте и оставлены на ночь для лучшего растворения хитозана. Затем образцы анализировали в буферном растворе нитрата натрия 0,5 М при низком pH. Система была откалибрована по стандартам полисахарида с узким молекулярно-массовым распределением, также производства компании Agilent Technologies.

Пример калибровочной кривой для колонок PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм, полученной при использовании стандартов пулллана, показан на рисунке 7 (страница 9).

Необработанные хроматограммы и средние значения молекулярной массы (Mw) для трех образцов хитозана показаны на рисунке 10. На рефрактометре наблюдались выделяющиеся дисбалансные пики (неравные положительные и отрицательные пики), которые объяснялись тем, что при подготовке проб для растворения была использована сильная кислота.

Колонки: 2 шт. PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм, 300 × 7,5 мм (Кат. № PL1149-6800)
Элюент: 0,5 М NaNO₃ + 0,01 М NaH₂PO₄ при pH 2
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Темп.: 50°C
Система: Комплексная система для ГПХ (ЭХ)
PL-GPC 50 Integrated GPC/SEC System (RI)

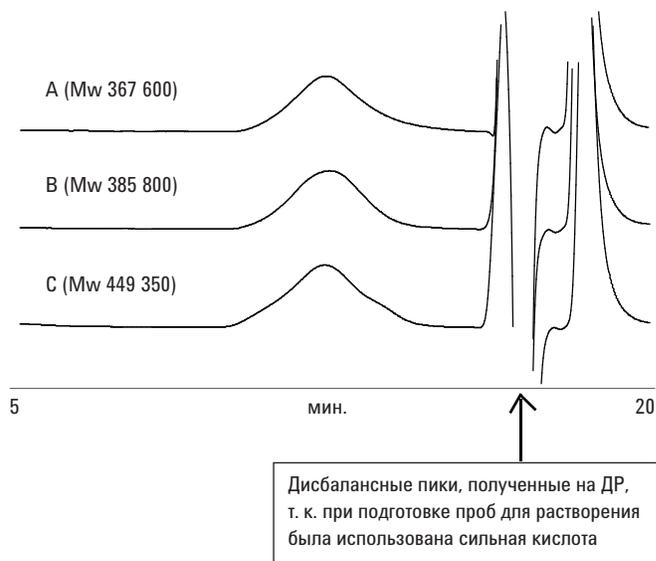


Рисунок 10. Необработанные хроматограммы и средние значения молекулярной массы трех проб хитозана

Небольшие различия в молекулярной массе, выявленные при данном анализе, все-таки являются достаточными для того, чтобы изменить поведение хитозана из этих трех образцов в конечном продукте.

Метилцеллюлоза

Данный полимер — это производное целлюлозы, применяемое в качестве сухого связующего вещества, добавляемого во время прямого прессования порошков или после влажной грануляции. Метилцеллюлоза также применяется в косметике как загуститель и эмульгатор, а в медицине как средство от запоров. Был проведен анализ двух образцов метилцеллюлозы методом ЭХ на колонках PL aquagel-OH. Рассчитанные средние значения молекулярной массы сравнивались со значениями вязкости, указанными производителями. Калибровка проводилась на стандартах полисахарида поллулана компании Agilent. На рисунке 11 показаны необработанные хроматограммы двух образцов метилцеллюлозы. Как видно из таблицы 2, полученные данные демонстрируют хорошую корреляцию между вязкостью и средними значениями молекулярной массы.

Таблица 2. Диапазоны значений вязкости и молекулярной массы двух проб метилцеллюлозы

	Проба метилцеллюлозы	
	А	В
Диапазон вязкости (сП)	от 85 до 115	от 4000 до 6000
Mn	131 000	484 000
Mw	369 000	1 023 000
Mz	691 000	1 884 000

Колонки: PL aquagel-OH 60 8 мкм, 300 × 7,5 мм
(Кат. № PL1149-6860)
PL aquagel-OH 40 8 мкм, 300 × 7,5 мм
(Кат. № PL1149-6840)
Элюент: 0,05 М NaH₂PO₄ + 0,25 М NaCl при pH 7
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Темп.: 50°C
Система: Комплексная система для ГПХ (ЭХ)
PL-GPC 50 Integrated GPC/SEC System (RI)

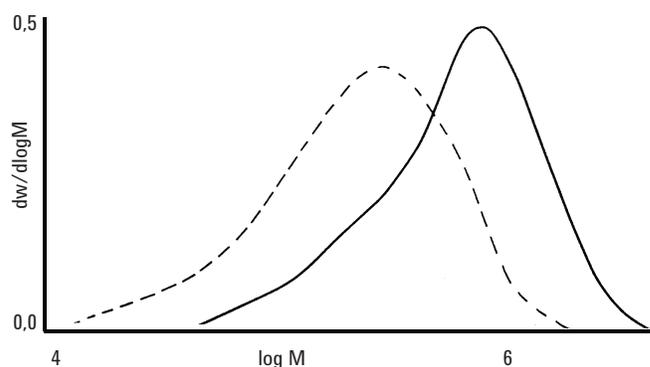


Рисунок 11. Необработанные хроматограммы двух образцов метилцеллюлозы, полученные на комплекте колонок Agilent PL aquagel-OH



Покрyтия

Твердые дозированные лекарственные формы часто покрыты тонким слоем вспомогательных веществ, защищающих лекарство, не допускающих преждевременного разрушения таблетки, изменяющих процесс высвобождения активного вещества или даже служащих субстратом для маркировки или иной идентификации продукции. Из всех покрытий дольше всего и чаще всего используется желатин.

Желатин

Анализ желатина методом эксклюзионной хроматографии дает очень важную информацию о молекулярной массе, от которой зависят физические свойства полимера (такие как характеристики схватывания). В данном эксперименте использовались линейные колонки PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм. Применение для анализа желатина простого буферного раствора в качестве элюента уменьшает взаимодействие между образцом и колонками, обеспечивая хорошие результаты анализа.

Детектирование проводилось методом светорассеивания, так как при данной методике определяется абсолютная молекулярная масса и калибровать колонки нет необходимости.

Элюент подготавливался как буферный раствор с отрегулированным рН путем добавления 0,1 М NaOH. Образец был тщательно подготовлен в виде растворов в концентрации 1,0 мг/мл в элюенте. Сначала детектор светорассеивания был откалиброван по стандарту полисахарида пулпилан компании Agilent. Стандарт имел M_p 186 000 и был подготовлен в концентрации 1,0 мг/мл. По известным значениям концентрации, M_p и dn/dc калибранта, были рассчитаны константы детектора и междетекторного объема для системы.

По хроматограмме показателей преломления можно было рассчитать dn/dc , так как образец желатина был подготовлен в известной концентрации. Затем полученное значение dn/dc было использовано для расчета общего значения M_w по данным о рассеянии света под углами от 90° до 15° .

Коэффициент преломления и данные о рассеянии света также использовались для расчета молекулярной массы по ЭХ срез за срезом для образца желатина, с использованием обоих сигналов рассеяния света. Общие значения M_w получились равными 174 000 (90°), 189 850 (15°) и 184 800 (ЭХ).

На рисунке 12 показаны данные по КП и рассеянию света под углами 90° и 15° для желатина.

Детектирование методом светорассеивания более чувствительно к веществам с большой молекулярной массой, поэтому хроматограммы, полученные по рассеянию света под углами 90° и 15° , более репрезентативны для веществ с высокой молекулярной массой, чем хроматограммы, полученные по КП. На хроматограмме, полученной по КП, также имелся отрицательный пик, объяснявшийся различиями состава образца, растворителя и элюента, который не наблюдался при детектировании методом светорассеивания.

Колонки: 2 шт. PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм, 300 × 7,5 мм (Кат. № PL1149-6800)
Элюент: Вода + 0,2 М NaNO₃ + 0,01 М NaH₂PO₄ при рН 7
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Система: Комплексная система для ГПХ (ЭХ) PL-GPC 50 (рефрактометрический детектор и двухугловой детектор светорассеивания Agilent PL-GPC 50)

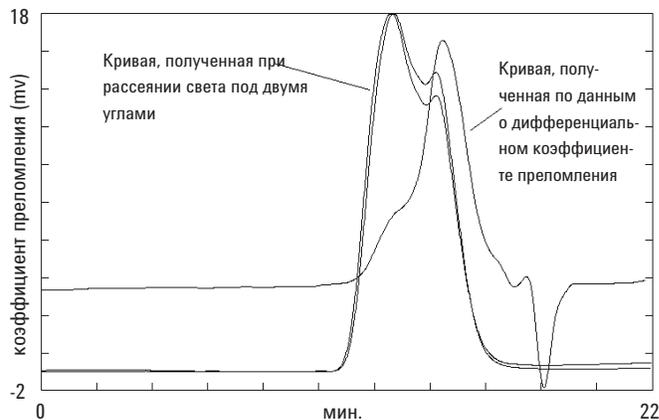


Рисунок 12. Коэффициент преломления и данные при рассеянии света под углами 90° и 15° для желатина, полученные на комплексе из двух колонок Agilent PL aquagel-OH MIXED-H

Ацетат целлюлозы

Целлюлоза образует смешанные эфиры с радикалами ацетила, бутирила или фталата, применяемые как покрытие для капсул и таблеток, медленно высвобождающее активное вещество. Ацетат целлюлозы растворим в ограниченном числе растворителей. В использованном методе растворение производили в диметилацетамиде после небольшого нагрева и перемешивания раствора пробы.

Колонки: 3 × PLgel 10 мкм MIXED-B, 300 × 7,5 мм
(Кат. № PL1110-6100)
Элюент: ДМАА + 0,5% LiBr
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Загрузка: объемно-весовая концентрация 0,2%, 100 мкл
Темп.: 60°C
Система: Аналитическая система для ГПХ (ЭХ)
1260 Infinity GPC/SEC Analysis System (RI)

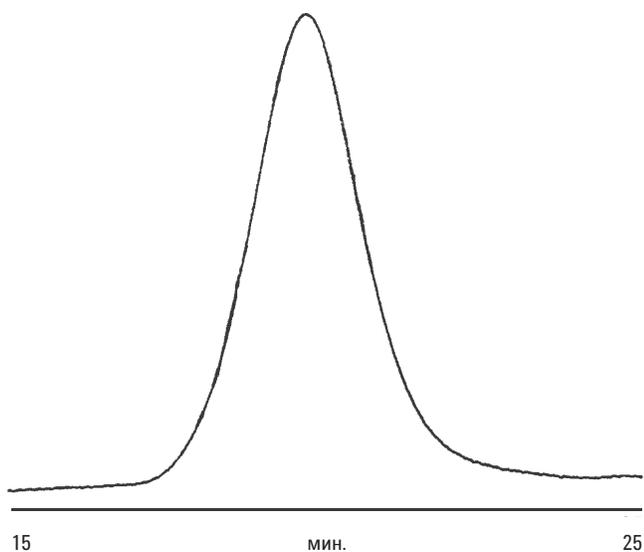


Рисунок 13. Анализ ацетата целлюлозы с помощью колонок Agilent PLgel 10 мкм MIXED-B



Аналитическая система для ГПХ (ЭХ)
Agilent 1260 Infinity GPC/SEC Analysis System

Разрыхлители

Разрыхлители, такие как карбоксиметилцеллюлоза, разбухают и растворяются при намокании, при этом таблетки распадаются и выделяют активное вещество. Разрыхлители могут модифицироваться или использоваться в различных комбинациях, так чтобы таблетка растворялась в течение определенного времени и активное вещество выделялось медленно.



Карбоксиметилцеллюлоза

Эксклюзионную хроматографию можно использовать для выявления небольших различий в профилях распределения молекул разных размеров в водорастворимых полимерах, имеющих одинаковый коэффициент вязкости. Такие полимеры, как карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ), могут иметь разные физические характеристики, что обусловлено разбросом молекулярной массы вещества. Колонки Agilent PL aquagel-OH 40 8 мкм и PL aquagel-OH 60 8 мкм идеальны для распознавания незначительного разброса значений молекулярной массы КМЦ, так как они дают максимальное разрешение за счет сочетания низкого предела эксклюзии, большого объема пор и высокой эффективности колонки (>35 000 ЧТТ/м).

В данном случае, две колонки PL aquagel-OH в разном исполнении были соединены последовательно, чтобы охватить диапазон молекулярных масс от 10^4 до 10^7 . Калибровка колонок была проведена по стандартам пуллулана, также производства компании Agilent.

На рисунке 14 показаны незначительные различия в молекулярной массе трех образцов карбоксиметилцеллюлозы, вязкость которых находится в одних пределах.

Колонки: PL aquagel-OH 60 8 мкм, 300 × 7,5 мм
(Кат. № PL1149-6860)
1 шт. PL aquagel-OH 40 8 мкм, 300 × 7,5 мм
(Кат. № PL1149-6840)
Элюент: 0,5 М Na_2SO_4
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Система: Комплексная система для ГПХ (ЭХ)
PL-GPC 50 Integrated GPC/SEC System (RI)

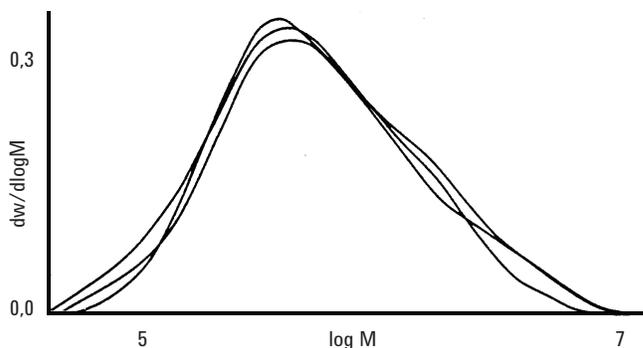


Рисунок 14. Необработанные хроматограммы, полученные на колонках Agilent PL aquagel-OH, показывают небольшие различия в молекулярной массе образцов карбоксиметилцеллюлозы, вязкость которых находится в одних пределах

Циклодекстрины — методом обращенно-фазовой ВЭЖХ

Циклодекстрины (ЦД) — это циклические олигосахариды, как правило, состоящие из 6, 7 или 8 глюкозных остатков, иначе называемые α -, β - или γ -циклодекстрины, соответственно. Формой они напоминают усеченный конус с относительно гидрофобной внутренней полостью и гидрофильной наружной поверхностью. Строение циклодекстринов позволяет им взаимодействовать с молекулами подходящего размера и образовывать комплексы включения. Такое поведение было задействовано в фармацевтической отрасли, где ЦД используются в процессе доставки лекарственных средств с целью модификации физико-химических свойств целевого лекарственного средства.

Циклодекстрины часто используют с гидрофобными молекулами лекарственных средств для улучшения растворимости, устойчивости, биологической доступности и разложения целевого соединения. Тип циклодекстрина определяет степень модификации свойств молекулы. Кроме того, выбор циклодекстрина для применения будет зависеть от требований, которые налагают форма лекарственного средства и способ его введения, а также способность растворять, необходимая для введения лекарства в носитель. Использование циклодекстринов с целью содействия растворению гидрофобных лекарственных средств дает систему доставки лекарственных средств, позволяющую разрабатывать лекарства, которые в противном случае не удалось бы создать из-за того, что активное вещество нерастворимо. Следовательно, определение характеристик циклодекстринов — очень важный вопрос в фармацевтической отрасли.

Проводить анализ циклодекстринов методом ВЭЖХ сложно, так как они не имеют УФ хромофоров, и часто для этого требуется градиентное элюирование, что делает детектирование с помощью рефрактометрического детектора непрактичным. Детектирование с помощью испарительного детектора светорассеяния (ИДСР) является выгодным альтернативным методом определения состава циклодекстринов, так как он не зависит от оптических свойств соединения. По этой причине ИДСР часто называют «универсальным» детектором.

Способность ИДСР компании Agilent обнаруживать любое соединение, менее летучее, чем подвижная фаза, облегчает детектирование компонентов фармацевтических составов и представление их на одной хроматограмме. ИДСР компании Agilent также может работать при низких температурах, которые обычно необходимы для фармацевтических соединений, так как его рабочая температура не зависит от подвижной фазы.

Преимущества ИДСР наглядно показаны на рисунке 15 на примере анализа фармацевтического состава, содержащего циклодекстрины и активное лекарственное средство ибупрофен.

Колонка:	C18 5 мкм, 150 × 4,6 мм
Элюент А:	Вода
Элюент Б:	Ацетонитрил
Скорость потока:	1,0 мл/мин
Ввод. объем:	20 мкл
Градиент:	от 50 до 95% В в течение 5 мин
Детектирование:	ИДСР Agilent 380-LC (расп.=30°C, испл.=50°C, газ=1,0 станд. л/мин)

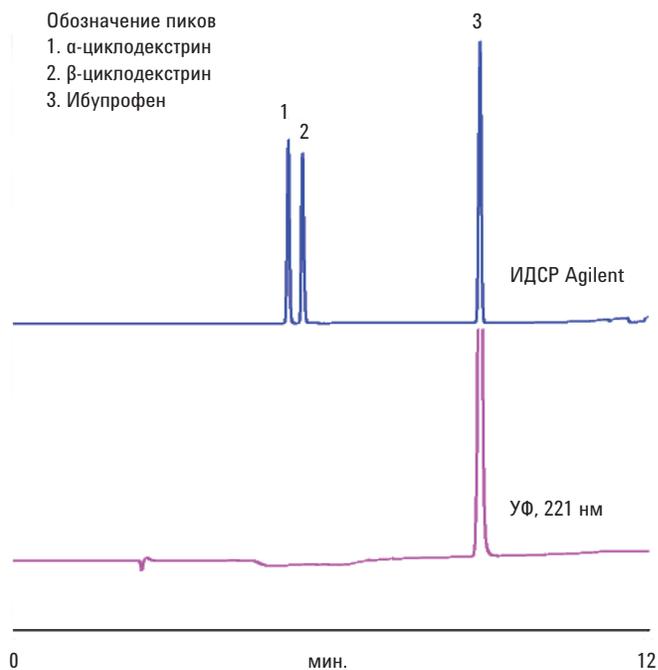


Рисунок 15. Наличие циклодекстринов, выявленное ИДСР Agilent

Преимущество ИДСР компании Agilent, заключающееся в том, что он может работать при низкой температуре, ясно видно по кривым на рисунке 16, полученным для того же состава. Прибор, работающий при 30°C, дает точные данные о составе образца. Однако при температуре 50°C происходит потеря полуплетучего ибупрофена, при этом занижается концентрация активного лекарственного вещества. Следовательно, ИДСР компании Agilent способен дать информацию об истинном составе фармацевтических составов на одной хроматограмме.

ИДСР компании Agilent определяет истинный состав циклодекстрина и ибупрофена благодаря его чувствительности к соединениям, имеющим слабые УФ хромофоры или не имеющим их вовсе. Данный прибор превосходит другие ИДСР в ситуациях, когда ВЭЖХ необходимо проводить при низкой температуре в связи с наличием полуплетучих соединений. Новое конструктивное решение детектора — это следующее поколение технологии ИДСР, обеспечивающее хорошие результаты при решении самых разных прикладных задач методом ВЭЖХ.

Колонка: C18 5 мкм, 150 × 4,6 мм
Элюент А: Вода
Элюент Б: Ацетонитрил
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Ввод. объем: 20 мкл
Градиент: от 50 до 95% В в течение 5 мин
Детектирование: ИДСР Agilent 380-LC
(расп.=30°C, исп.=50°C, газ=1,0 станд. л/мин)

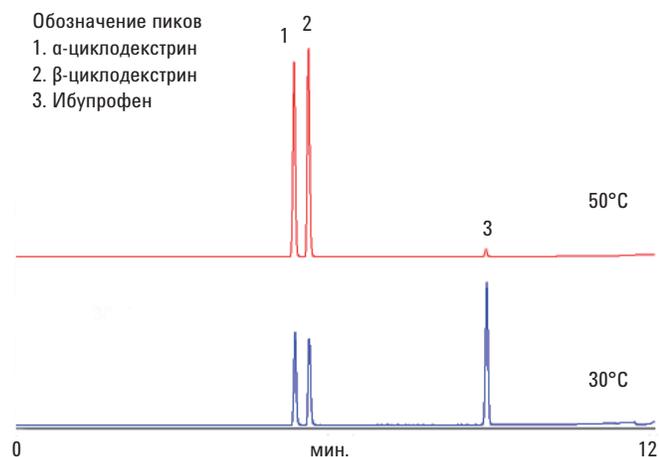


Рисунок 16. При низкой температуре ИДСР компании Agilent регистрирует истинную концентрацию фармацевтического состава

Доставка лекарственных веществ

Традиционные системы доставки лекарственных веществ, такие как оральные контрацептивы, обладают серьезным недостатком — высвобождение активных веществ происходит очень нелинейно, причем, как правило, большая доза высвобождается в момент введения, а далее концентрация активного вещества устойчиво снижается, по мере того как лекарственное вещество метаболизируется в организме. Такой профиль высвобождения является недейственным и неэффективным. В идеале во время лечения поступающая в организм доза активного вещества должна быть постоянной. Основная цель исследований в области методов лечения — добиться управляемого высвобождения лекарственных веществ *in vitro*, которое имело бы линейный характер. Управляемого высвобождения можно добиться с помощью вспомогательных веществ.

Поликапролактam

Поликапролактam — это хорошо изученный полимер, биологически разлагаемый в человеческом теле путем ферментативного расщепления эфирных связей. Когда активное вещество в матрице из поликапролактама попадает в организм, матрица начинает постепенно разрушаться, а активное вещество высвобождаться с постоянной скоростью. Хроматограмма на рисунке 17 представляет пик поликапролактама, полученного в ТГФ, на двух колонках Agilent PLgel 5 мкм MIXED-C. При прохождении через колонки, полимер дал широкий пик, при этом среднее значение молекулярной массы составило 80 000 г/моль а полидисперсность 2,5.

После широкого пика, который дал полимер, наблюдалось множество положительных и отрицательных системных пиков. Такое часто наблюдается при применении рефрактометрических детекторов и является артефактом.

Колонки: 2 шт. PLgel 5 мкм MIXED-C, 300 × 7,5 мм
(Кат. № PL1110-6500)
Элюент: ТГФ (стабилизированный)
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Ввод. объем: 200 мкл
Система: Комплексная система для ГПХ (ЭХ)
PL-GPC 50 Integrated GPC/SEC System (RI)

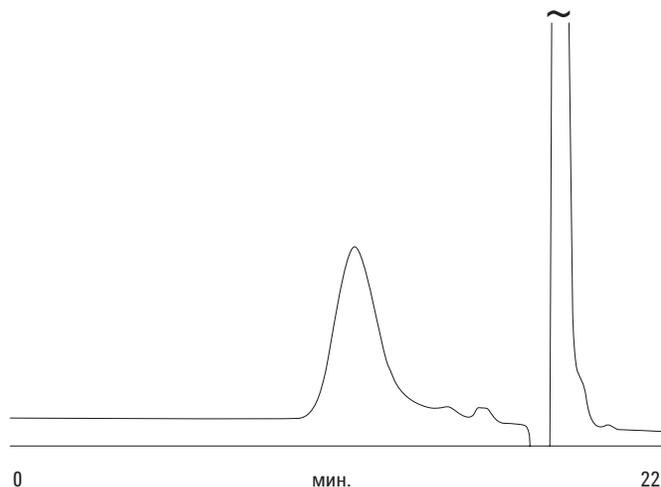


Рисунок 17. Кривая с широким пиком распределения молекулярной массы поликапролактама, полученная методом гель-проникающей хроматографии на колонках Agilent PLgel MIXED-C (пик колонки обрзан)

Поли(лактид-ко-гликолид) — методом элюентной хроматографии полимеров при градиентном элюировании

Изначально полилактид и его сополимеры с гликолидом были созданы для биологически разлагаемых шовных материалов. Однако они нашли более широкое применение в качестве компонентов систем доставки лекарственных средств, так как способны изменять фармакокинетику активных веществ и не давать им разрушаться в организме.

В данном примере описан анализ состава статистического сополимера лактида и гликолида по методу градиентной элюентной хроматографии полимеров (ГЭХП). ГЭХП — это общий термин, описывающий анализ полимеров в хроматографических условиях, когда концентрация одного из двух компонентов элюента плавно повышается (градиент концентрации). Анализ методом ГЭХП можно проводить для разделения ряда полимеров по молекулярной массе, но гораздо чаще он применяется для разделения полимеров по химическому составу. Как правило, распределение по химическому составу вызвано гетерогенностью реакции полимеризации или сополимеризацией мономеров с образованием статистических полимеров или блоксополимеров.

Использованное в эксперименте ГЭХП оборудование идентично оборудованию, применяемому при традиционных методах градиентной ЖХ. Это бинарный градиентный насос, кран-дозатор, колонка для нормально-фазовой или обращенно-фазовой ВЭЖХ (хотя ГЭХП выполняется на совершенно инертных субстратах) и детектор, нечувствительный к составу элюента, как правило, это испарительный детектор светорассеяния. Градиент, используемый при анализе — это обычно бинарная система, состоящая из термодинамически хорошего растворителя и термодинамически плохого растворителя для полимера. Сначала в систему вводится термодинамически плохой растворитель. Проба исследуемого полимера растворяется в хорошем растворителе и вводится в колонку, после чего применяется градиент, при котором происходит переход от плохого растворителя к термодинамически хорошему для полимера растворителю. В начале анализа превалируют условия плохого растворителя и полимер осаждается из раствора. По мере увеличения градиента достигаются термодинамически благоприятные условия и полимер снова растворяется. После

того, как полимер перешел в раствор, становится возможным взаимодействие с поверхностью среды в колонке, причем механизм взаимодействия зависит от выбранных колонки и элюента. В этих взаимодействиях преобладает либо нормально (-обращенно)-фазовый механизм, либо механизм эксклюзии, что приводит к удерживанию или ускорению полимера относительно фронта растворителя, соответственно. Характер взаимодействий в колонке определяет, от каких параметров будет зависеть разделение. Если полимер удерживается в колонке относительно фронта растворителя, полимер остается в зоне хорошей растворимости и разделение определяется молекулярной массой (как происходит при типовом эксперименте методом обращенно-фазовой или нормально-фазовой ВЭЖХ). Однако если полимер ускоряется относительно фронта хорошего растворителя, проба входит в зону плохой растворимости и снова происходит осаждение. Фронт растворителя продолжает двигаться по колонке, поэтому условия хорошего растворителя восстанавливаются и полимер снова растворяется. В подобных условиях данный процесс повторяется неоднократно и последовательные этапы осаждения (растворения) продолжаются до тех пор, пока полимер не выйдет из колонки. Элюирование образца зависит от относительной растворимости компонентов полимера в двух элюентах, таким образом, достигается разделение на компоненты.

На рисунке 18 показано типичное строение сополимеров. Для настоящего анализа в качестве термодинамически хорошего растворителя был выбран тетрагидрафуран, а в качестве плохого — метанол.

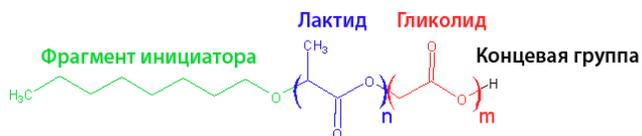


Рисунок 18. Строение статистических сополимеров (полилактид-ко-гликолид)

На рисунке 19 представлены хроматограммы сополимеров, полученные с помощью градиента, заключавшегося в 2-минутном удержании в 99% метаноле, после чего в тетрагидрофуране, концентрация которого в течение 10 минут увеличивалась от 1% до 99%.

Колонка: Agilent PLRP-S 100Å 5 мкм, 150 × 4,6 мм
(Кат. № PL111-3500)
Элюент: ТГФ и метанол
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Ввод. объем: 20 мкл
Темп.: Комнатная
Детектор: ИДСР Agilent 380-LC
Система: Модули 1260 Infinity

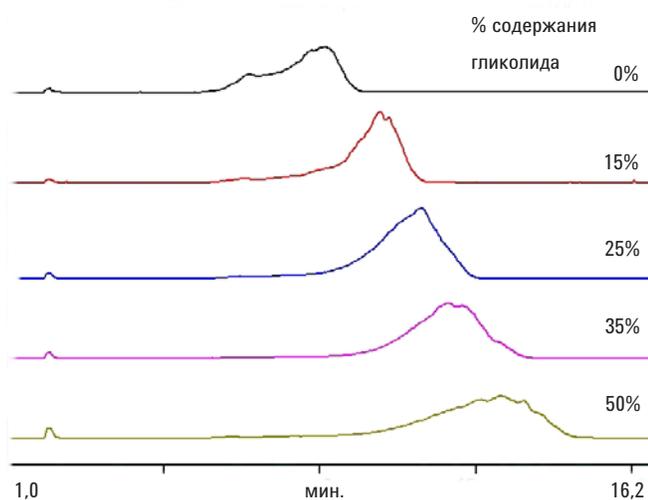


Рисунок 19. Хроматограммы сополимеров поли(лактид-ко-гликолида) при разных концентрациях тетрагидрофурана

На рисунке 20 представлена взаимосвязь между процентным содержанием гликолида и молекулярной массой образцов, в зависимости от наблюдаемого времени удерживания. Очевидно, что взаимосвязи между молекулярной массой сополимеров и временем удерживания не было. Однако линейная зависимость между процентным содержанием гликолида в сополимерах и временем удерживания была очевидна, что говорит о том, что разделение на компоненты произошло.

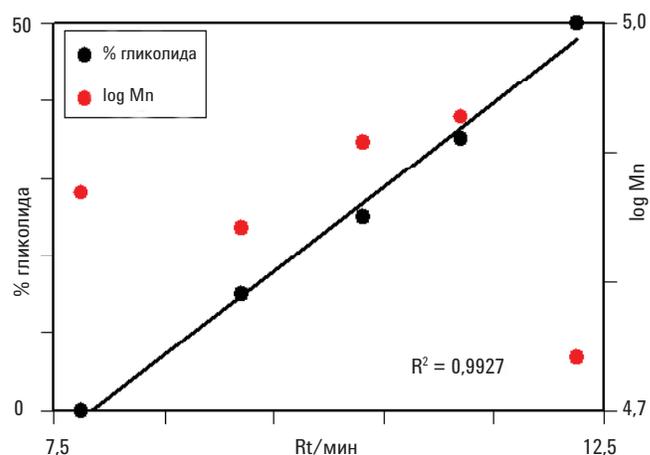


Рисунок 20. Взаимосвязь между процентным содержанием гликолида и молекулярной массой образцов в зависимости от наблюдаемого времени удерживания

Таким образом, ГЭХП является мощным инструментом анализа молекулярной структуры полимеров, так как путем тщательного подбора элюентов и колонок полимер можно разделить как по составу, так и по молекулярной массе. Недостатком такой чувствительности к условиям анализа является то обстоятельство, что для того, чтобы получить максимум информации от эксперимента ГЭХП, условия анализа необходимо специально продумывать для каждого конкретного случая.

Наполнители

Чтобы твердые таблетки или капсулы было удобно производить и принимать, они должны иметь подходящие размеры, т. е. от нескольких миллиметров до примерно одного сантиметра. Для этого используются наполнители, такие как спирты высшей атомности.

Спирты высшей атомности — методом ионо-обменной хроматографии

Спирт высшей атомности (иначе называемый полиол, многоатомный спирт или полиспирт) — это гидрогенизированная форма углевода, карбонильная группа которого (альдегид или кетон, восстанавливающий сахар) была восстановлена до первичной или вторичной гидроксильной группы. Как дисахариды, так и моносахариды могут образовывать спирты высшей атомности; однако спирты высшей атомности, полученные из дисахаридов (например, мальтит и лактит) являются неполностью гидрогенизированными, так как имеется всего одна альдегидная группа, которую можно восстановить.

В данном испытании разделение семи спиртов высшей атомности на колонке Agilent Hi-Plex Ca было улучшено за счет добавления в подвижную фазу ацетонитрила. Составленный раствор спиртов высшей атомности содержал 10 мг/мл изоэритрита, адонита, арабита, маннита, ксилита, дульцита и сорбита в воде.

Когда в качестве подвижной фазы используется чистая вода, несколько спиртов высшей атомности в пробе элюируются совместно, либо частично, либо полностью. Очень маловероятно, что при изменении рабочей температуры или расхода можно добиться четких интервалов между этими соединениями на хроматограмме. Добавление ацетонитрила в подвижную фазу сильно влияет на селективность материала Hi-Plex Ca, в результате время удерживания удваивается (рисунок 21).

Колонка: Hi-Plex Ca USP L19 8 мкм, 250 × 4,0 мм
(Кат. № PL1570-5810)
Ввод. объем: 10 мкл
Темп.: 90°C
Детектирование: Agilent PL-GPC 50 (РД)
Подвижная фаза: 30 частей ацетонитрила, 70 частей воды
Скорость потока: 0,30 мл/мин

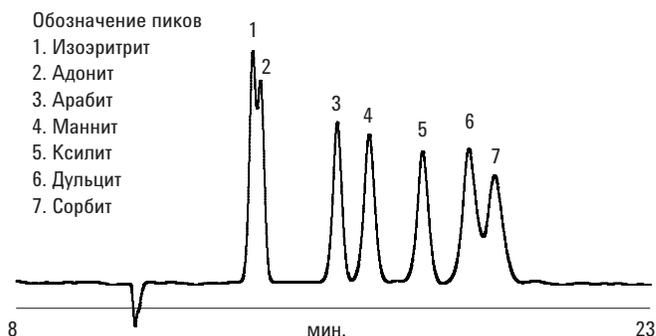


Рисунок 21. Необработанная хроматограмма семи спиртов высшей атомности, полученная на колонке Agilent Hi-Plex Ca USP L19 после добавления в подвижную фазу ацетонитрила

Применение 30% ацетонитрила удлинняет время удерживания спиртов высшей атомности и, как результат, увеличивает разрешение. Пики всех семи спиртов высшей атомности частично или полностью разделены.

Сорбит — методом ионно-обменной хроматографии

Сорбит, иначе называемый «глюцит» — это спирт высшей атомности, который медленно метаболизируется в организме. Он образуется путем восстановления глюкозы, при котором альдегидная группа заменяется на дополнительную гидроксильную. В качестве вспомогательного вещества, сорбит выступает как смачиватель и пластификатор в оболочке капсул, сохраняя ее гибкость с тем, чтобы с ней было легче обращаться, и чтобы она не засыхала.

Согласно методу Фармакопеи США, сорбит анализируется на жидкостном хроматографе, оборудованном рефрактометрическим детектором, работающим при температуре около 50°C, и колонке с размерами 7,7 мм × 10 см, содержащей наполнитель L34 (сильная катионообменная смола — сульфированный сшитый сополимер стирола с дивинилбензолом в свинцовой форме). Температуру колонки необходимо поддерживать на уровне 50°C, со скоростью потока 0,7 мл/мин. Для использования в качестве внутреннего стандарта был приготовлен раствор сорбита и маннита, причем концентрация каждого компонента была 4,8 мг/мл. Для данного анализа требовалось, чтобы для маннита относительное время удерживания составляло около 0,6, а для сорбита 1,0 при разрешении не менее 2,0. Анализ проводился на колонке Agilent Hi-Plex Pb USP L34, предназначенной для этой цели (рисунок 22).

Колонка: Hi-Plex Ca USP L34 8 мкм, 100 × 7,7 мм
(Кат. № PL1170-2820)
Подвижная фаза: Вода
Скорость потока: 0,7 мл/мин
Темп.: 50°C
Детектирование: по коэффициенту преломления

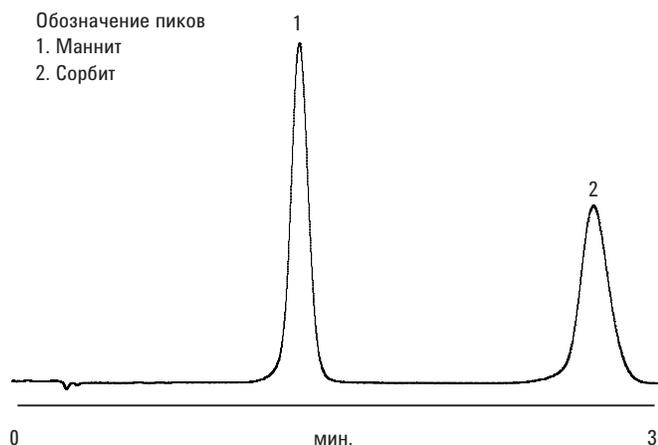


Рисунок 22. Необработанная хроматограмма для сорбита и маннита, полученная на колонке Agilent Hi-Plex Pb USP L34

Маннит — методом ионно-обменной хроматографии

Маннит — это высокомолекулярный спирт, используемый как осмотический диуретик и слабый почечный вазодилататор. Это стереоизомер сорбита. С химической точки зрения, маннит — это спирт высшей атомности, или полиол, подобный ксилиту и сорбиту.

Согласно методу Фармакопеи США, маннит анализируется на жидкостном хроматографе, оборудованном рефрактометрическим детектором, работающим при постоянной температуре, и колонке с размерами 4 мм × 25 см, содержащей наполнитель L19 (сильная катионообменная смола — сульфированный сшитый сополимер стирола с дивинилбензолом в кальциевой форме). Температуру колонки необходимо поддерживать в пределах от 30°C до 85°C, при скорости потока 0,5 мл/мин. Для использования в качестве внутреннего стандарта был приготовлен раствор маннита и сорбита, причем концентрация каждого компонента составляла 4,8 мг/мл. Единственным требованием для данного анализа является разрешение не менее 2,0. Для анализа использовалась колонка Agilent Hi-Plex Ca USP (рисунок 23).

Колонка: Hi-Plex Ca USP L19 8 мкм, 250 × 4,0 мм
(Кат. № PL1570-5810)
Подвижная фаза: Вода
Скорость потока: 0,5 мл/мин
Температура: 70°C
Детектирование: по коэффициенту преломления

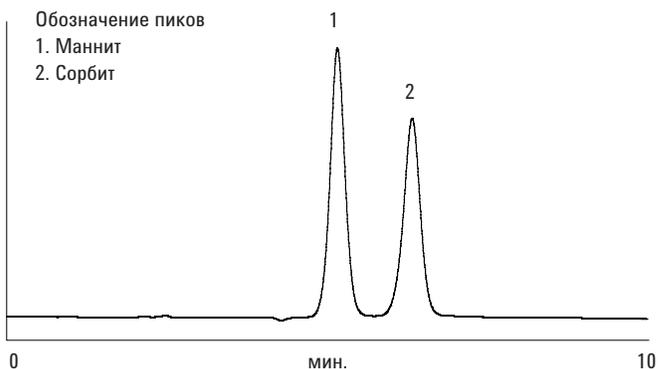


Рисунок 23. Необработанная хроматограмма для маннита и сорбита, полученная на колонке Agilent Hi-Plex Ca USP L19

Суспендирующие вещества и увеличивающие вязкость вещества

Суспендирующие и увеличивающие вязкость вспомогательные вещества, такие как гидроксиэтилцеллюлоза, используются для того, чтобы равномерно распределять прочие ингредиенты в препарате и сохранять их во взвешенном состоянии, не допуская того, чтобы активные вещества выпадали в осадок или осаждались под действием силы тяжести. Это особенно важно для жидких препаратов, во время их производства и в дальнейшем.

Гидроксиэтилцеллюлоза в органическом элюенте

Гидроксиэтилцеллюлоза (ГЭЦ) широко применяется в косметической и фармацевтической отраслях, например, как гелевая основа для микробицидов. Это неионный полимер, обладающий многочисленными полезными свойствами. Он легко растворяется в горячей и холодной воде и может быть загустителем, стабилизатором, эмульгатором или диспергирующим веществом.

Анализ ГЭЦ можно проводить методом водной ГПХ, но очень часто эти соединения растворимы в полярных органических растворителях, таких как диметилформамид (ДМФА). Для анализа ГЭЦ прекрасно подходят колонки PLgel 5 мкм MIXED-C. Чтобы уменьшить слипание образца, так как некоторые из этих материалов ионные, к нему был добавлен модификатор LiBr (рисунок 24). Для калибровки использовали стандарты ПЭО/ПЭГ; полистирол растворим в ДМФА, но определенная адсорбция очевидна. В таблице 3 представлена дисперсность и средние значения молекулярной массы трех образцов гидроксиэтилцеллюлозы.

Таблица 3. Средние значения молекулярной массы и дисперсность трех образцов гидроксиэтилцеллюлозы

Проба	Средняя молекулярная масса			Полидисперсность (Mw/Mn)
	Mn	Mw	Mp	
A	27 000	140 000	80 000	5,2
B	30 000	159 000	102 000	5,2
C	39 000	345 000	190 000	8,9

Колонки: PLgel 5 мкм MIXED-C, 300 × 7,5 мм (Кат. № PL1110-6500)
Элюент: ДМФА + 0,1% LiBr
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Темп.: 50°C
Система: Комплексная система для ГПХ (ЭХ) PL-GPC 50

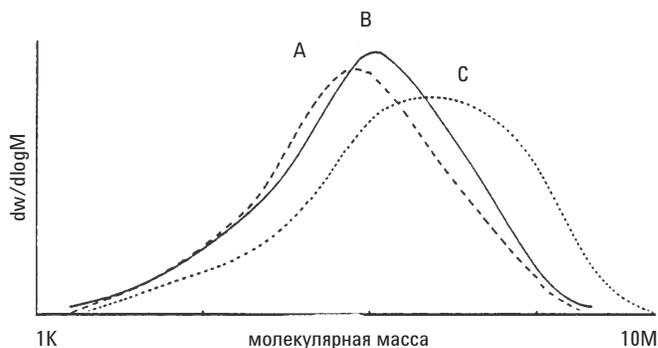


Рисунок 24. Анализ трех образцов гидроксиэтилцеллюлозы с помощью колонок Agilent PLgel 5 мкм MIXED-C

Три данных материала довольно различны по молекулярной массе, что свидетельствует о возможной разнице в их поведении в конечном продукте.

Гидроксиэтилцеллюлоза в водном элюенте

Был проведен анализ трех образцов гидроксиэтилцеллюлозы методом эксклюзионной хроматографии на колонках PL aquagel-OH. Рассчитанные средние значения молекулярной массы сравнивались со значениями вязкости, указанными производителями. Калибровка проводилась на стандартах полисахарида пуллулана, также производства компании Agilent. На рисунке 25 показаны необработанные хроматограммы смеси гидроксиэтилцеллюлоз. Как видно из таблицы 4, полученные данные демонстрируют хорошую корреляцию между вязкостью и средними значениями молекулярной массы.

Таблица 4. Средние значения молекулярной массы и диапазон вязкости трех образцов гидроксиэтилцеллюлозы

Проба	Средняя молекулярная масса			Диапазон вязкости (сП)
	Mn	Mw	Mz	
A	60 300	179 000	139 000	от 75 до 112
B	413 000	849 000	1 552 000	от 250 до 324
C	914 000	2 016 000	3 422 000	от 1 500 до 2 500

Колонки: PL aquagel-OH 60 8 мкм, 300 × 7,5 мм (Кат. № PL1149-6860)
 PL aquagel-OH 40 8 мкм, 300 × 7,5 мм (Кат. № PL1149-6840)
 Элюент: 0,05 М NaH₂PO₄ + 0,25 М NaCl при pH 7
 Скорость потока: 1,0 мл/мин
 Темп.: 50°C
 Система: Комплексная система для ГПХ (ЭХ)
 PL-GPC 50 Integrated GPC/SEC System (RI)

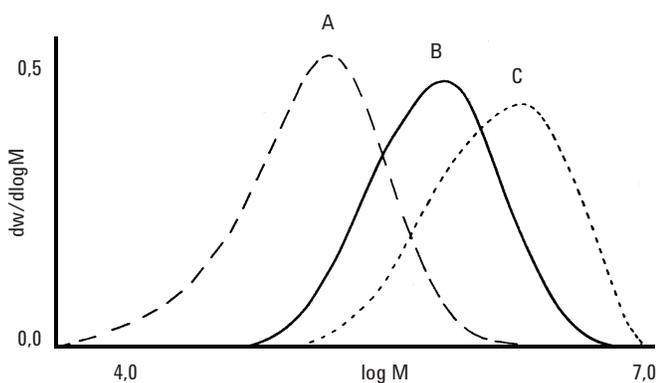


Рисунок 25. Необработанные хроматограммы смеси гидроксиэтилцеллюлоз, полученные на колонках Agilent PL aquagel-OH

Модифицированная гидроксиэтилцеллюлоза

При изменении гидрофобности ГЭЦ изменяется молекулярная масса, и подобные изменения можно оценить методом эксклюзионной хроматографии на колонках PL aquagel-OH 40 и PL aquagel-OH 60 8 мкм компании Agilent.

В данном случае, две колонки PL aquagel-OH были соединены последовательно, чтобы охватить диапазон молекулярных масс от 10⁴ до 10⁷. Калибровка колонок была проведена по стандартам пуллулана производства компании Agilent.

На рисунке 26 показаны налегающие друг на друга кривые распределения молекулярных масс пробы ГЭЦ до и после модификации ее гидрофобности. Образец А — это ГЭЦ. Образец Б — это образец А после модификации гидрофобности.

Пробы: Гидроксиэтилцеллюлоза до и после модификации
 Колонки: PL aquagel-OH 60 8 мкм, 300 × 7,5 мм (Кат. № PL1149-6860)
 PL aquagel-OH 40 8 мкм, 300 × 7,5 мм (Кат. № PL1149-6840)
 Элюент: 0,05 М NaH₂PO₄ + 0,25 М NaCl при pH 7
 Скорость потока: 1,0 мл/мин
 Темп.: 50°C
 Система: Комплексная система для ГПХ (ЭХ)
 PL-GPC 50 Integrated GPC/SEC System (RI)

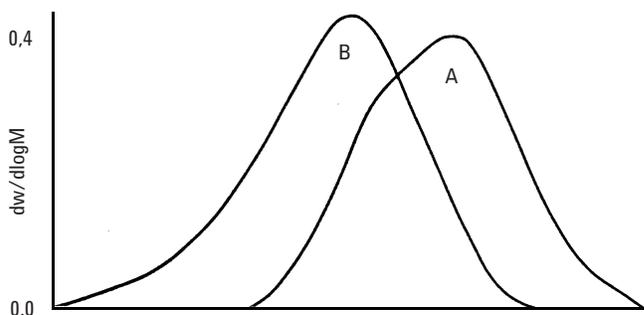


Рисунок 26. Накладывающиеся друг на друга кривые распределения молекулярной массы пробы гидроксиэтилцеллюлозы до и после модификации

Другие технологические решения компании Agilent для анализа вспомогательных веществ

Компания Agilent предлагает богатый набор средств для любых аспектов анализа вспомогательных веществ. Для определения физико-химических свойств подойдут спектроскопические технологии анализа, такие как ЯМР, Фурье-ИКС и масс-спектрометрия. Для определения хроматографических свойств рекомендуются ВЭЖХ, ГХ/МС и ЭХ. Если требуется оценить наличие примесей, подойдут методы ААС, ГХ/МС и УФ/В. Для измерения физико-химических свойств следует использовать тесты на растворение и детектирование по коэффициенту преломления.

ГПХ-Фурье-ИКС

При объединении хроматографических методов с другими аналитическими методами можно получить гораздо больше информации для оценки вспомогательного вещества. Компания Agilent предлагает два новаторских интерфейса гель-проникающей хроматографии (ГПХ) с инфракрасной спектроскопией с преобразованием Фурье (Фурье-ИКС), позволяющих оперативно, за один анализ, выявлять неоднородность состава и его взаимосвязь с молекулярной массой.

ГХ/МС

Для анализа на летучие и остаточные примеси компания Agilent предлагает самый широкий в отрасли ассортимент систем газовой хроматографии (ГХ) и газовой хроматографии/масс-спектрометрии (ГХ/МС), расходных материалов и техническую поддержку. Требуется ли универсальные, надежные аппаратные и программные средства для комплексных исследований, простые, прочные системы для повседневных производственных нужд или быстродействующие, износостойкие портативные варианты для оперативных измерений на предприятии или на выезде — можно подобрать вариант ГХ или ГХ/МС, способный решить сложные аналитические и коммерческие задачи.

ЖХ и ЖХ/МС

Эти технологии идеальны для оценки содержания полуплетучих примесей во вспомогательных веществах. Для простого анализа или подтверждения (по известной молекулярной массе) подойдут системы Agilent 6100B Series Single Quadrupole или Agilent 6200 Accurate-Mass TOF LC/MS с ПО Easy Access. При проведении более комплексного анализа строения неизвестных вспомогательных веществ, системы Agilent 6500 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS обеспечат данные прекрасного качества и предоставят расширенные аналитические возможности для описания, идентификации, определения характеристик и количественной оценки состава вспомогательных веществ. А в сочетании с программным обеспечением MassHunter достигается полная уверенность в результатах.

Колонки Agilent Poroshell 120 обеспечивают уверенное разделение с высоким разрешением в диапазоне давления любой распространенной ЖХ, позволяя воспользоваться преимуществами колонок с дисперсностью сорбента менее 2 мкм на существующих ЖХ. Колонки Poroshell могут обеспечивать разделение с высоким разрешением и высокой скоростью на существующих приборах, и более высокое разрешение и скорость на новых системах ЖХ высокого давления и ЖХ/МС.



Колонки Agilent Poroshell 120

ИСП-МС

Используемая для анализа примесей тяжелых металлов система Agilent 7700x ICP-MS настроена на типовые анализы образцов с высоким содержанием матрицы. Система оборудована уникальным блоком ввода проб с высоким содержанием матрицы (high-matrix interface, HMI) и оккупольным реакционным узлом ORS3. Высокотемпературная плазма (и меньше помех от оксидов), интиерфейс, устойчивый к матрице, и динамический диапазон в 9 порядков превращают систему 7700x в идеальное сочетание прочности, чувствительности и аналитического диапазона, требуемое от «рабочей лошадки» лаборатории. Но в то же время система сохраняет гибкость, позволяющую ей справляться с более сложными исследовательскими задачами.

Тесты на растворение

В ситуациях, когда требуется тестирование по методам 1, 2, 5 и 6 Фармакопеи США, следует использовать тестер растворимости Agilent 708-DS Dissolution Apparatus, а для метода 3 — цилиндр с возвратно-поступательным движением Agilent BIO-DIS Reciprocating Cylinder Apparatus. Для задач, где требуется метод 7, рекомендуется Agilent Reciprocating Holder Apparatus 7, а для составов небольшого объема — Agilent 400-DS Apparatus 7.



Колонки Agilent SuperFlash

Система Flash для поиска новых лекарственных средств

Система для очистки Agilent 971-FP Flash Purification System — это полностью специализированная система с высокой производительностью и высокой степенью извлечения для очистки образцов на стадии разработки новых лекарств. Ориентированная на химиков, система достигает максимального извлечения и самой высокой чистоты за кратчайшее время. Простая система 971-FP с «открытым доступом» позволяет большой группе химиков, занимающихся очисткой промежуточных соединений, работать независимо, повышая производительность при очистке и извлечении соединений-кандидатов на использование в лекарственном средстве.

Прочный прибор 971-FP вместе с ПО IntelliFlash, модулем DASi (Dissolve, Absorb, Sample injection — «растворение, абсорбция, введение образца») и колонками очистки SuperFlash образуют усовершенствованный набор инструментов для разработки методик, предназначенный для сокращения времени наладки системы и быстрого определения оптимального метода очистки. Для очистки на уровне разработок, компания Agilent предлагает ассортимент более крупных патронов Flash F75/F150.



Система для очистки Agilent 971-FP Flash Purification System

Информация для заказа

В настоящем сборнике описаны указанные ниже изделия. Полный перечень каталожных номеров изделий для ГПХ (ЭХ) см. в интернете: www.agilent.com/chem/store

Колонки	
Наименование	Кат. №
Agilent PL aquagel-OH 40 8 мкм, 300 × 7,5 мм	PL1149-6840
Agilent PL aquagel-OH 50 8 мкм, 300 × 7,5 мм	PL1149-6850
Agilent PL aquagel-OH 60 8 мкм, 300 × 7,5 мм	PL1149-6860
Agilent PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм, 300 × 7,5 мм	PL1149-6800
Agilent PLgel 5 мкм MIXED-C, 300 × 7,5 мм	PL1110-6500
Agilent PLgel 10 мкм MIXED-B, 300 × 7,5 мм	PL1110-6100
Agilent Hi-Plex Ca USP L19 8 мкм, 250 × 4,0 мм	PL1570-5810
Agilent Hi-Plex Pb USP L34 8 мкм, 100 × 7,7 мм	PL1170-2820
Agilent PLRP-S 100Å 5 мкм, 150 × 4,6 мм	PL111-3500

Аппаратура	
Наименование	Кат. №
Аналитический прибор Agilent 1260 Infinity для ГПХ (ЭХ)	Уточнить в местном представительстве
Комплексная система для ГПХ (ЭХ) Agilent PL-GPC 50	G7810A
ИДСР Agilent 380-LC	G4260A
Комплект из нескольких детекторов для ГПХ (ЭХ)	G7800A
Agilent 1260 Infinity GPC/SEC Multi Detector Suite	

Дополнительная литература

Компания Agilent выпустила сборники ТИ по биоразлагаемым полимерам, техническим полимерам, анализу полиолефинов и низкомолекулярных смол. Кроме того, предлагается большой выбор информационных материалов по всем аспектам ГПХ (ЭХ) — указаний по применению, листов технических данных и технических обзоров.

Публикация	Номер
Введение в ГПХ (ЭХ)	5990-6969EN
Руководство по выбору колонок ГПХ (ЭХ)	5990-6868EN
Биоразлагаемые полимеры	5990-6920EN
Технические полимеры	5990-6970EN
Эластомеры	5990-6866EN
Анализ полиолефинов	5990-6971EN
Низкомолекулярные смолы	5990-6845EN
Пищевые добавки	5990-8634EN
Справочник по колонкам для органической ГПХ (ЭХ)	5990-7994EN
Справочник по колонкам водной и полярной ГПХ (ЭХ)	5990-7995EN
Справочник по стандартной продукции ГПХ (ЭХ)	5990-7996EN

Все публикации можно найти в интернет-библиотеке: www.agilent.com/chem/library

Переведите анализ вспомогательных веществ на новый уровень

Продукция компании Agilent для ГПХ (ЭХ):

www.agilent.com/chem/gpcsec

Приобретение через Интернет:

www.agilent.com/chem/store

Связаться с компанией Agilent или авторизованным дилером:

www.agilent.com/chem/contactus

Россия

8 800 500 9227; +7 495 797 3900

agilentRU@agilent.com



Информация, описания и технические характеристики в настоящем документе могут быть изменены без предварительного уведомления.

© Фирма Аджилент Текнолоджиз инк., 2012 г.
Отпечатано в Великобритании, 26 апреля 2012 г.
5990-7771RU



Agilent Technologies