

УДК 543.544.5.068.7: 615.2/3: 611.018.54

© А. В. Новиков, Р. А. Бубляев, Д. И. Корнев, Н. В. Краснов

ВЭЖХ-МС-АНАЛИЗ СВЕРХМАЛЫХ КОЛИЧЕСТВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

С помощью приборного комплекса, состоящего из времяпролетного масс-спектрометра МХ 5310 и жидкостного хроматографа Милихром А-02, произведен анализ состава лекарственных препаратов. Показана возможность повышения чувствительности хромато-масс-спектрометрического анализа лекарственных компонентов по отношению к хроматографическому анализу.

Кл. сл.: анализ лекарственных средств, жидкостной хроматограф—масс-спектрометр, повышение чувствительности

ВВЕДЕНИЕ

Развитие фармацевтической науки привело к созданию новых лекарственных препаратов, даже ничтожные количества которых обладают сильным биологическим действием [1]. Соответственно возрастают и требования к отечественным приборным комплексам, позволяющим как качественно, так и количественно анализировать эти лекарственные препараты.

В настоящей работе с помощью приборного комплекса, состоящего из времяпролетного масс-спектрометра с ортогональным вводом и ионизацией электрораспылением МХ 5310 и жидкостного хроматографа Милихром А-02, произведен анализ состава лекарственных препаратов, находящихся как в оптовой, так и в розничной продаже.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Возможности высокоэффективного жидкостного хроматографа Милихром А-02 как отдельного аналитического прибора неоднократно демонстрировались как при выявлении "брака", так и в поиске поддельных лекарств, что подтверждается наличием аттестованных методик [1, 2]. Подключение же в качестве дополнительного детектора времяпролетного масс-спектрометра МХ 5310 позволит значительно расширить диапазон решаемых с помощью Милихрома А-02 задач с точки зрения чувствительности.

В данной работе с помощью указанного приборного тандема решалась задача анализа состава такого лекарственного средства, количества компонентов которого находятся ниже предела обнаружения УФ-детектора хроматографа. Для этого была приготовлена модельная смесь лекарств (па-

рацетамол, кофеин, анальгин и кодеин), содержащая не более 0.1 нг каждого вещества. В качестве растворителя использовался метанол, а в качестве элюента — ацетонитрил и 0.25 %-й раствор муравьиной кислоты.

На рис. 1 представлен участок суммарного масс-спектра модельной смеси, снятого за все время прохождения хроматограммы. Следует отметить, что компоненты смеси УФ-детектором хроматографа не регистрировались.

Анализ масс-спектра позволил идентифицировать компоненты смеси, причем было выявлено, что анальгин присутствует в растворе в виде фрагментов с массами 217.1 Да и 203.1 Да (пики 3), что было подтверждено специальным экспериментом с чистым анальгином.

Аналогичный результат был получен при анализе второй модельной смеси лекарств, содержащей ранитидин, кофеин, ампициллин, ципрофлоксацин, кетопрофен и диклофенак, приготовленной в тех же количествах, что и предыдущая смесь.

Суммарный масс-спектр, снятый в режиме *on-line*, легко идентифицировался, несмотря на то что на хроматограмме пики искомым веществам не наблюдались (рис. 2).

Для определения чувствительности приборного тандема была произведена серия измерений интенсивности пика бацитрацина А ($C_{66}H_{10}N_{17}O_{16}S^+$) массой 1422.757 при различных концентрациях раствора. На рис. 3 представлены данные этих экспериментов.

В области количеств бацитрацина А, отмеченной на рис. 3 штриховкой, хроматографический спектр отсутствует, т. е. такие количества вещества находятся ниже предела детектирования УФ-детектора хроматографа. Но при этом присутствует масс-спектр бацитрацина А. В незаштрихованной области детектируются оба спектра.

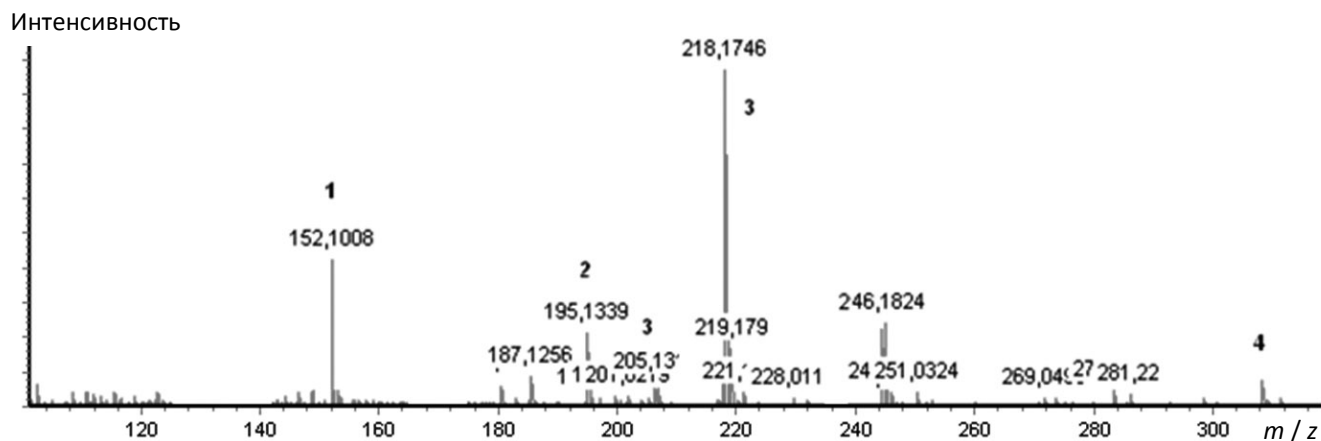


Рис. 1. Участок полного масс-спектра.

1 — парацетамол (151.2 Да), 2 — кофеин (194.2 Да), 3 — аналгин (333.1 Да), 4 — кодеин (299.4 Да)

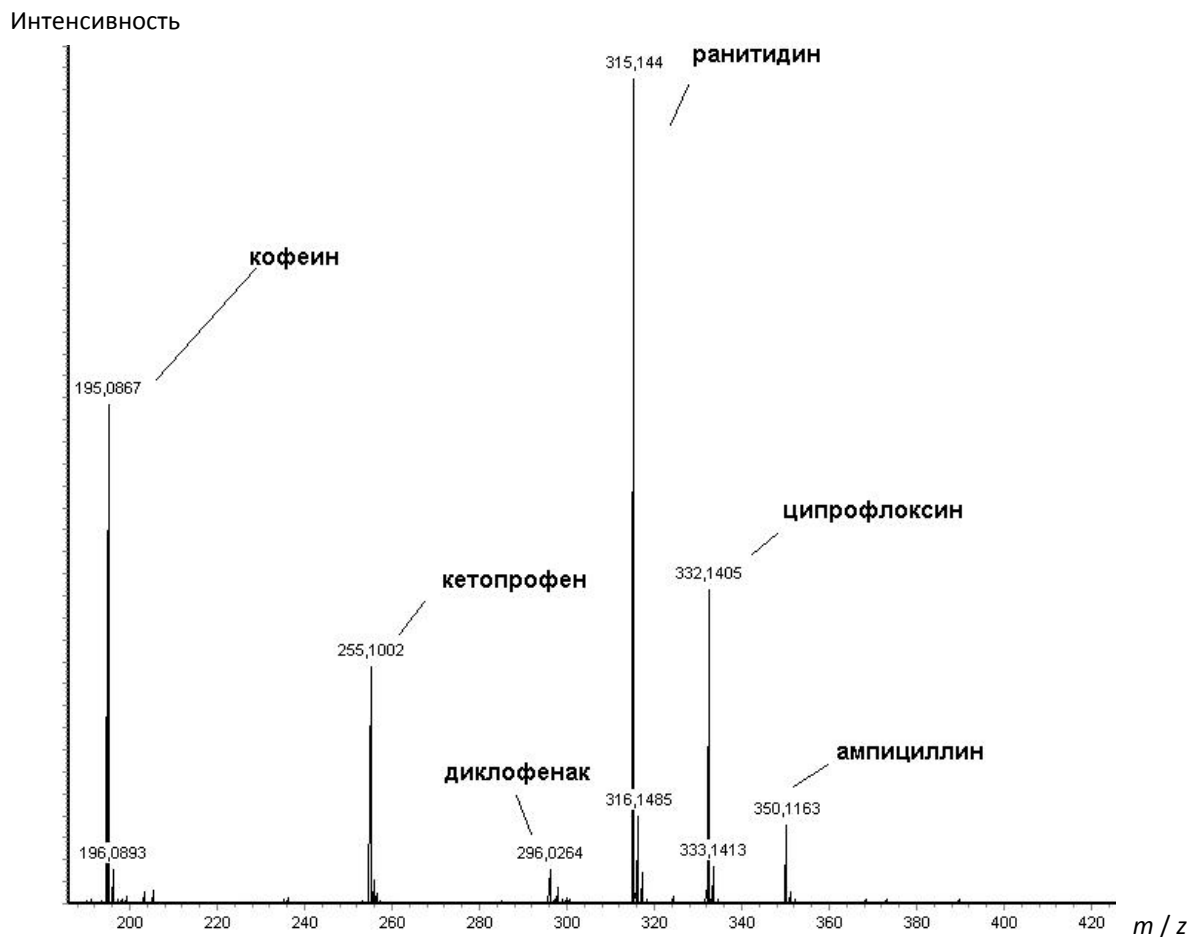


Рис. 2. Фрагмент полного масс-спектра смеси лекарств

Следует отметить, что для иных веществ эти области могут быть несколько сужены либо расширены.

ВЫВОДЫ

Таким образом, эксперименты показали, что отечественный приборный тандем (Милихром А-02—МХ 5310) позволяет идентифицировать отдельные компоненты смеси лекарственных препаратов на уровне 100 фмоль, — тем самым расширены возможности использования жидкостного хроматографа и ESI-масс-спектрометра.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали стандарты лекарственных веществ: кофеин (Sigma-Aldrich); образцы российской фармацевтической компании "Активный компонент" кетопрофен, диклофенак и ципрофлоксацин (чистота не менее 99.8 %); ацетонитрил ("Криохром", сорт "0", Санкт-Петербург); муравьиную и трифторуксусную кислоты (Sigma-Aldrich).

Экспериментальные работы проводились на приборе МХ 5310, оборудованном электрораспылительным источником ионов (electrospray ionization, ESI) и времяпролетным масс-анализатором (TOF) с ортогональным вводом ионов, разработанном в Лаборатории биоме-

дицинской масс-спектрометрии ИАП РАН. Все спектры получены в режиме детектирования положительных ионов.

Хроматографическое разделение проводилось на микроколоночном жидкостном хроматографе Милихром А-02 ("Эконова", Новосибирск) с использованием хроматографической колонки размером 2×75 мм, заполненной сорбентом Prontosil AQC18.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барам Г.И., Рейхарт Д.В., Гольдберг Е.Д. и др. Новые возможности высокоэффективной жидкостной хроматографии в фармакопейном анализе // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2003. Т. 135, № 1. С. 75–79.
2. Новиков А.В., Назимов И.В., Русанов В.А. и др. Контроль производства генно-инженерного инсулина человека с помощью тандема "микроколоночный жидкостный хроматограф—масс-спектрометр" в режиме прямого ввода образца // Научное приборостроение. 2004. Т. 14, № 2. С. 109–116.
3. Миргородская О.А., Козьмин Ю.П., Новиков А.В. и др. Способ получения изотопномодифицированных пептидов и белков. Патент РФ № 2399627 от 20 сентября 2010 г., приоритет изобретения от 13 февраля 2008 г.

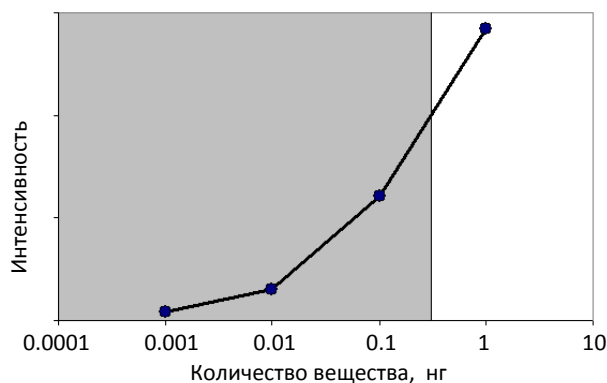


Рис. 3. Предел чувствительности тандема по бацитрацину А

*Институт аналитического приборостроения РАН,
Санкт-Петербург*

Контакты: Корнев Дмитрий Ильич,
kornevdi@gmail.com

Материал поступил в редакцию 8.10.2010.

HPLC-MS ANALYSIS OF ULTRA LOW QUANTITIES OF MEDICAL PRODUCTS

A. V. Novikov, R. A. Boubliaev, D. I. Kornev, N. V. Krasnov

Institute for Analytical Instrumentation RAS, Saint-Petersburg

By means of the instrument complex consisting of the time-of-flight mass-spectrometer MX 5310 and the liquid chromatograph Milichrome A-02, the analysis of medical products composition was carried out. The possibility of sensitivity increasing chromatographic analysis of medical compounds in comparison with chromatographic analysis is shown.

Keywords: medical product analysis, liquid chromatograph—mass-spectrometer, sensitivity increasing