

## Розробка умов аналізу метоклопраміду методом газорідинної хроматографії

О.О.Маміна, Н.Ю.Бевз, Г.О.Бур'ян, К.О.Бур'ян

Національний фармацевтичний університет України  
Харків, Україна

Розроблено оптимальні умови ідентифікації та кількісного визначення метоклопраміду методом газорідинної хроматографії. Встановлено, що абсолютний час утримування піків складає: для розчинника сполуки (етанолу) —  $34,6 \pm 0,2$  с, для метоклопраміду —  $132,5 \pm 0,2$  с. Чутливість кількісного визначення метоклопраміду — 6 мкг/мл досліджуваного розчину.

**Ключові слова:** метоклопрамід, метод газорідинної хроматографії.

### ВСТУП

Одним з найбільш розповсюджених методів аналізу токсичних сполук є метод газорідинної хроматографії (ГРХ), який характеризується швидкістю виконання аналізу, високою чутливістю, широким вибором хроматографічних колонок та детекторів.

Удосконалення ГРХ-методик аналізу отруту проводиться в напрямках вибору оптимальних умов дослідження (вибору сорбенту, складу нерухої рідкої фази, температурного режиму колонки, детектора, випарника та швидкості надання газа-носія в колонку), що надає можливість аналізувати за розробленими умовами як індивідуальні речовини, так і суміші токсичних речовин та їх метаболітів.

Метою роботи була розробка оптимальних умов аналізу метоклопраміду методом газорідинної хроматографії, придатних для хіміко-токсикологічних досліджень.

Метоклопрамід — 4-аміно-5-хлор-N-[2-(диетиламіно)етил]-2-метокси-бензаміда гідрохлорид — має протиблювотну дію, регулює функції органів травлення, сприяє за-

гоєння виразки шлунка. При передозуванні викликає депресивний стан, набряки, алергічні реакції [3, 5].

При проведенні аналізу біологічного матеріалу на наявність метоклопраміду застосовуються спектральні (фотометрія, УФ-спектрофотометрія) та хроматографічні (високоєфективна рідинна хроматографія, тонкошарова хроматографія) методи [4, 6-8].

Розробка умов ГРХ-методу обумовлює можливість отримувати більш надійні та об'єктивні результати при застосуванні всього комплексу хіміко-токсикологічних досліджень на метоклопрамід.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Хроматографічний аналіз був проведений за допомогою газового хроматографа «Кристал-2000» (Іжевський електромеханічний завод, Іжевськ, РФ) на базі Харківського обласного бюро судово-медичної експертизи.

Хроматографування виконували в наступних умовах: скляна колонка із сорбентом Хроматон N-AW-DMCS (0,16-0,20 мкм) завдовжки 1 м та діаметром 3 мм; рідка нерухома фаза — 5% SE-30, 5% XE-60, 5% OV-17; рухома газова фаза — азот.

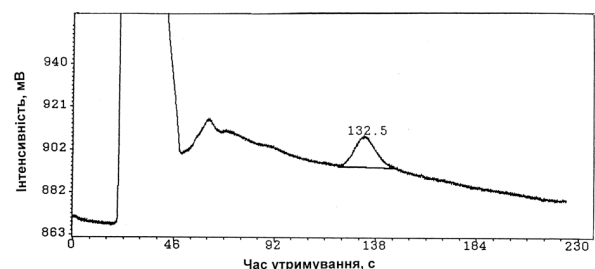


Рис. 1. Хроматограма етанольного розчину метоклопраміду (25 мкг/мл).

ТАБЛИЦЯ 1

## Ідентифікація метоклопраміду ГРХ-методом (n=5)

Умови хроматографування		Час утримування (t <sub>утрим.</sub> ), с		Кількість теоретичних тарілок (N)	Висота, еквівалентна теоретичній тарілці (BETT)	Коефіцієнт симетрії (Ks)
Нерухома рідка фаза	Розчинник	Речовина	Розчинник			
5% XE-60	Етанол	73,0±0,2	33,3±0,3	695	1,44	0,8
5% SE-30	Ацетон	133,3±0,2	35,2±0,2	1348	0,74	0,82
5% SE-30	Етанол	132,5±0,2	34,6±0,2	1795	0,56	0,85

Об'єм введеної проби — 1-5 мкл. Дозування та введення проб виконували за допомогою мікрошприца «Hamilton» місткістю 10 мкл.

Дослідження проводили в ізотермічному температурному режимі (колонки — 100°C, детектора — 230°C, випарника — 230°C), швидкість надання азоту в колонку — 20 мл/хв. Детектування сполук виконували при застосуванні електронно-захватного детектора.

Для порівняльної оцінки вибраних умов хроматографування використовували етанольні та ацетонові розчини метоклопраміду, які містили 5,0-50,0 мкг/мл речовини.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що при застосуванні наведених умов хроматографування (рідка нерухома фаза — 5% SE-30, 5% XE-60) на хроматограмі спостерігались симетричні піки метоклопраміду та розчинників, а також їх чітке розділення (рис. 1).

При використанні рідкої нерухомої фази (5% OV-17) не відмічалось розділення піків метоклопраміду та етанолу, які виходили на хроматограмі одним піком.

У розроблених умовах ГРХ-аналізу був визначений час утримування отрут (t<sub>утрим.</sub>), розраховані коефіцієнти симетрії піків та показники ефективності хроматографічної колон-

ки — кількість теоретичних тарілок (N) та висота, еквівалентна теоретичній тарілці (BETT) [1, 2] (табл. 1).

Дані, наведені в табл. 1, підтверджували придатність хроматографічної системи (5% SE-30) для проведення ГРХ-аналізу речовини (ефективність хроматографічної колонки перевищує 800 т.т., коефіцієнти симетрії піків не перевищують 2,4).

Кількісне визначення метоклопраміду проводили методом абсолютної калібровки за висотою піка. Розрахунок вмісту отрути виконували за градувальним графіком, побудованим у залежності від висоти піків (h, мм) та концентрації речовин (C, мкг/мл), з використанням стандартних розчинів із різним вмістом отрут [1, 2].

У табл. 2 наведені інтервали лінійності побудованого графіка в діапазонах концентрацій 5,0-50,0 мкг/мл, нижня межа визначення — 6,0 мкг/мл.

Коефіцієнти регресії рівняння градувального графіка розраховані методом найменших квадратів.

Дані, наведені в табл. 3, свідчать про відтворюваність результатів ГРХ-аналізу в досліджуваних діапазонах концентрацій, отриманих за розробленими методиками в модельних розчинах, що підтверджується метрологічними характеристиками (відносна невизначеність не перевищує ±2,01%) [1, 2].

Розроблені методики можуть бути використані для аналізу отрут у судово-токсиколо-

ТАБЛИЦЯ 2

## Коефіцієнти регресії градувального графіка h=a+bC кількісного визначення метоклопраміду ГРХ-методом

Речовина	Коефіцієнти регресії градувального графіків		Довірчі інтервали коефіцієнтів регресії		Коефіцієнт кореляції (R)	Інтервал лінійності графіка (нижня межа визначення, мкг/мл)
	a	b	Δa	Δb		
Метоклопрамід	0,045	0,035	0,003	0,002	0,997	6,0-50,0 (6,0)

ТАБЛИЦЯ 3

## Результати кількісного визначення метоклопраміду в модельних розчинах методом ГРХ (n=5, P=95%)

Речовина	Вміст отрути в модельних розчинах, %	Метрологічні характеристики					
		X	S <sup>2</sup>	S	S <sub>x</sub>	Δx	ε
Метоклопрамід	98,1-102,1	100,1	2,62	1,62	0,72	2,01	2,01

гічному та хіміко-токсикологічному дослідженні. Аналіз індивідуальних отрут у витяжках з біологічного матеріалу методом ГРХ проводиться після ТШХ-скринінгу.

## ВИСНОВКИ

1. Запропоновано оптимальні умови аналізу метоклопраміду методом газорідної хроматографії та їх застосування для ідентифікації і кількісного визначення отрути в модельних розчинах.

2. Встановлено, що абсолютний час утримання піків складає: для розчинника сполуки (етанолу) —  $34,6 \pm 0,2$  с, для метоклопраміду —  $132,5 \pm 0,2$  с. Чутливість кількісного визначення метоклопраміду — 6 мкг/мл досліджуваного розчину.

3. Розроблені методики можуть бути використані для аналізу отрут у судово-токсикологічному та хіміко-токсикологічному дослідженні.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Маміна О.О. Розробка схеми спрямованого аналізу печінки тупа на кофеїн / О.О.Маміна // Вісник фармації. — 2001. — №3. — С. 35.
2. Маміна О.О. Хіміко-токсикологічний аналіз лідокаїну / О.О.Маміна, В.В.Болотов, В.С.Бондар // Фармац. журн. — 2003. — № 2. — С. 68-72.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — М.: Изд-во «Новая волна, 2010. — 1216 с.
4. Revanasiddappa H.D. Assay of some chemotherapeutic agents by visible spectrophotometry / H.D.Revanasiddappa, M.A.Veena, B.Manju, T.N.Kiran Kumar // Bulg. Chem. Commun. — 2003. — Vol. 35. — №4. — С. 235-241.
5. Cancer chemotherapy-induced nausea and vomiting: role of mediators, development of drugs and treatment methods / R.Mahesh, R.Venkatesha Perumal, P.V.Pandi [et al.] // Pharmazie. — 2005. — Vol. 60. — №2. — С. 83-96.
6. Clarke E.J.C. Isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material / E.J.C.Clarke. — London: The Pharm.Press, 1986. — 1226 p.
7. HPLC-DAD methods for studying the stability of solutions containing hydromorphone, ketorolac, haloperidol, midazolam, famotidine, metoclopramide, dimenhydrinate, and scopolamine / S.Nassr, M.C.Dubuc, P.Lavoie, J.L.Brazier // J. Liq. Chromatogr. and Relat. Technol. — 2003. — Vol. 26. — №17. — С. 2909-2929.
8. Simultaneous quantification of doxorubicin, lorazepam, metoclopramide, ondansetron, and ranitidine in mixtures by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / E.Abdel-Hamid Mohammed, Sharma Deepa [et al.] // J. Liq. Chromatogr. and Relat. Technol. — 2004. — Vol. 27. — №4. — С. 641-660.

**Е.А.Мамина, Н.Ю.Бевз, А.А.Бурьян, Е.А.Бурьян. Разработка условий анализа метоклопрамида методом газожидкостной хроматографии. Харьков, Украина.**

**Ключевые слова:** метоклопрамид, метод газожидкостной хроматографии.

*Разработаны оптимальные условия идентификации и количественного определения метоклопрамида методом газожидкостной хроматографии. Установлено, что абсолютное время удерживания пиков составляет: для растворителя вещества (этанола) —  $34,6 \pm 0,2$  с, для метоклопрамида —  $132,5 \pm 0,2$  с. Чувствительность количественного определения метоклопрамида — 6 мкг/мл анализируемого раствора.*

**О.О.Mamina, N.U.Bevz, A.O.Buryan, K.O.Buryan. Elaboration of conditions of metoclopramide analysis with gas-liquid chromatography method. Kharkiv, Ukraine.**

**Key words:** metoclopramide, gas-liquid chromatography method.

*The optimal conditions of identification and quantitative determination of metoclopramide with gas-liquid chromatography method were elaborated. The absolute retention times of peaks for solvent of preparation (ethanol) were  $34,6 \pm 0,2$  sec., for metoclopramide were  $132,5 \pm 0,2$  sec. Sensitivity of quantitative determination of metoclopramide 6 mkg/ml of analyzed solution was defined.*

*Надійшла до редакції 22.06.2010 р.*