

СОРБЕНТЫ ДЛЯ ВЭЖХ: НОВОЕ УНИКАЛЬНОЕ ПОКОЛЕНИЕ NUCLEODUR

А.Андресюк, ООО "ГалаХим"

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – базовый метод в современном фармацевтическом анализе. ВЭЖХ широко применяется для установления подлинности, определения чистоты, а также количественного содержания действующих веществ и примесей в лекарственных препаратах. Это основной инструмент в современных центрах контроля качества лекарств, поскольку по своим характеристикам соответствует требованиям количественного анализа около 80–90% препаратов. Поэтому очень важны современные, высокотехнологичные, устойчивые к высокому давлению сорбенты для колонок ВЭЖХ

Среди различных методов жидкостной хроматографии обращенно-фазовая ВЭЖХ (ОФ ВЭЖХ) занимает особое место. Специалисты часто говорят о "простоте и предсказуемости" ОФ ВЭЖХ. В этом методе для увеличения селективности разделения используют градиентное элюирование, различные варианты модификации поверхности, множество разнообразных мобильных фаз и буферных добавок.

Сегодня синтез новых сорбентов для ОФ ВЭЖХ, как и индустрия производства лекарственных средств, развивается особенно интенсивно. И одна из наиболее интересных новинок в этой области – линия сорбентов Nucleodur немецкой компании Macherey-Nagel. Сорбенты Nucleodur для ОФ ВЭЖХ – результат пионерских работ в области хроматографии, проводимых компанией Macherey-Nagel на протяжении более 40 лет. Это достойная замена всемирно известным и широко используемым сорбентам линии Nucleosil.

Сорбенты Nucleodur изготавливаются по уникальной технологии, которая позволяет получать материалы высокой степени чистоты, со строго упорядоченной модифицированной поверхностью, выдерживающие высокое давление. Эти сорбенты, разработанные на основе синтетического силикагеля третьего поколения, образуют гранулы строго

сферической формы с исключительно малой дисперсией размера (рис.1). Поэтому в образующемся слое у каждого зерна есть свое собственное закрепленное место, а пустоты одинаковы и по размеру, и по геометрии.

Такая структура приближается к теоретически возможной по эффективности. Поскольку частицы одинаковы по размеру, не существует более мелких

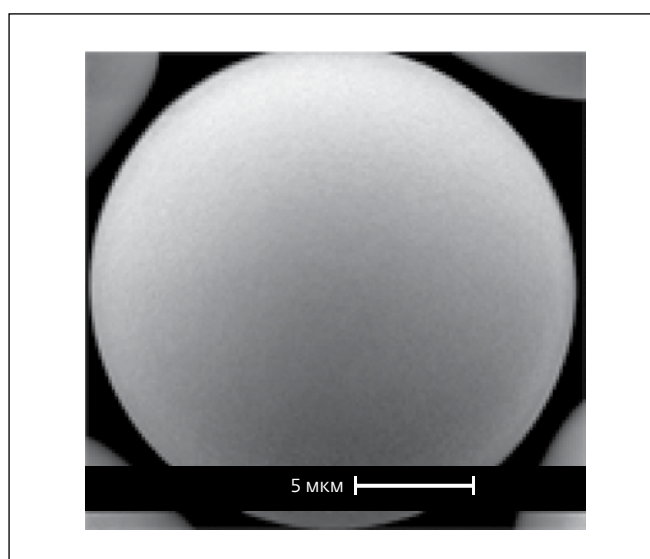


Рис.1. Микрофотография зерна сорбента Nucleodur

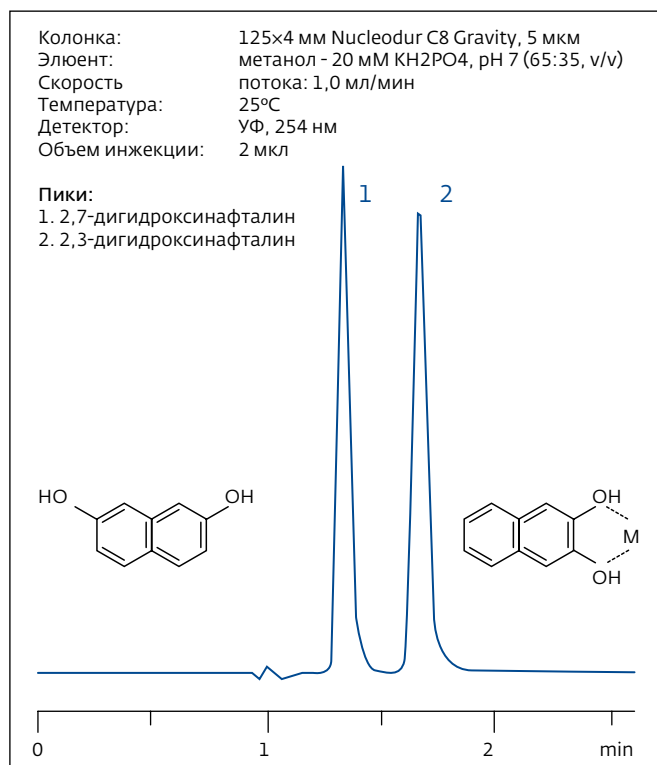


Рис.2. Определение металлов на сорбентах

фракций, которые, двигаясь вместе с потоком по пустотам, вымываются из колонки или забивают ее. В результате достигается хорошая устойчивость при высоких давлениях и скоростях потока.

Благодаря новым разработкам компания Macherey-Nagel производит 10 видов сорбентов Nucleodur с размером частиц 1,8; 3; 5; 7; 10; 12; 16; 20; 30 и 50 мкм как в нормально-фазовом, так и в обращенно-фазовом вариантах. Причем если 5 мкм – традиционный размер для аналитической ВЭЖХ, то сорбенты с частицами 1,8 мкм предназначены для нового поколения коротких высокоэффективных колонок, которые позволяют существенно сократить время анализа и расход растворителей. Сорбенты с размерами частиц 10–50 мкм применяются для препаративного выделения соединений.

Помимо размера и распределения частиц сорбента большое влияние на эффективность разделения оказывает его чистота. Ионы металлов (железа, щелочно-земельных металлов) на поверхности сорбента взаимодействуют с ионизируемыми/полярными аналитами (определяемыми компонентами), что приводит к уширению и размыванию пиков на хроматограмме, а в наиболее сложных случаях – к необратимой абсорбции анализируемых соединений.

Способ производства сорбентов Nucleodur позволяет получать материалы, практически не содержа-

щие примеси металлов. Для количественной оценки влияния взаимодействия с ионами металлов на асимметричность пиков используют смесь 2,7- и 2,3-дигидроксиафталинов. Только второй изомер образует с ионами металлов комплексные соединения, появление которых отражается на уширении сигналов и размывании тыла, что легко обнаружить при сравнении с близко удерживаемым пиком первого изомера (рис.2).

Один из основных недостатков неподвижных фаз на основе силикагеля – ограниченная стабильность в сильноокислых и сильноосновных средах. Обычно рабочий диапазон, в котором не происходит гидролиза и разрушения материала колонки, находится в интервале рН 2–8. Высокая степень связывания внутри зерен сорбентов Nucleodur, а также низкая концентрация примесей металлов позволяют расширить рабочий диапазон до рН 1,5–10, а в случае обращенных фаз с высоким содержанием гидрофобных групп (Nucleodur Gravity) – до рН 1–11.

Какие преимущества может принести работа при расширенном диапазоне рН? Многие азотсодержащие соединения, например, основные фармацевтические препараты, протонируются в кислой и нейтральной средах, поэтому плохо удерживаются, следовательно, плохо разделяются. Удерживание можно улучшить при работе в средах с более высокими значениями рН (9–10), где анализируемые соединения находятся в молекулярной, а не в ионной форме. Так, при разделении анестетиков ряда алкалоидов при переходе рН подвижной фазы от 2,5 к 10 возрастает не только время удерживания, но и существенно улучшается форма сигналов (рис.3). Пики разделяются до базисной линии, включая сигналы папаверина и носкапина, которые при рН 2,5 выходят практически вместе.

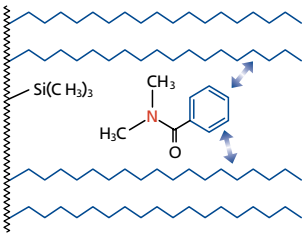
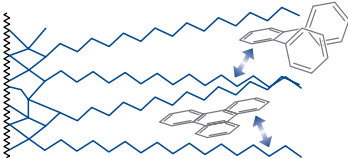
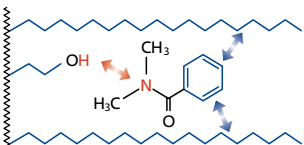
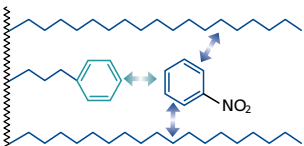
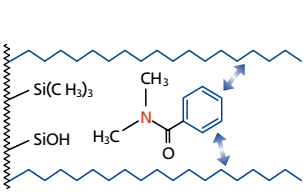
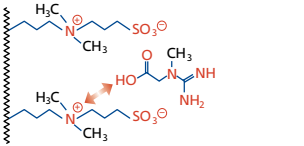
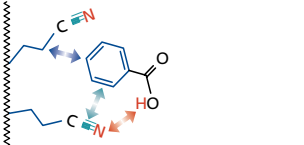
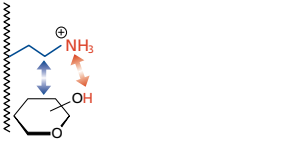
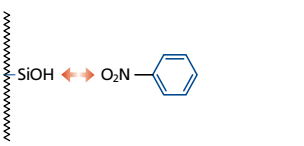
Для кислых анализируемых соединений наблюдается обратная зависимость: переход в молекулярные формы и максимальное удерживание происходит при низких значениях рН. Поэтому расширение рабочего диапазона рН неподвижных фаз – исключительно важное свойство для улучшения селективности ВЭЖХ.

Все уникальные свойства обращенно-фазовых сорбентов связаны с наличием на их поверхности слоя закрепленных неполярных групп. При синтезе обращенных фаз из-за стерических препятствий не удается добиться полной модификации поверхности силикагеля, и около 50% силанольных групп остаются свободными. Их взаимодействие с анализируемыми веществами приводит ко многим нежелательным эффектам – к искажению формы

Сорбенты линии Nucleodur для ВЭЖХ

Фаза	Описание	Селективность*	Стабильность	Структура	
C₁₈ / C₈ Gravity	Октадецильная фаза, высокой плотности, мульти-эндкепированная C ₁₈ Gravity: 18%С – USP L1 C ₈ Gravity: 11%С – USP L7	A	C ₁₈	Диапазон pH 1–11, подходит для LC/MS	
			C ₈		
		B	C ₁₈		
			C ₈		
		C	C ₁₈		
			C ₈		
C₁₈ Isis	Октадецильная фаза с дополнительными поперечно-сшитыми модификациями, эндкепированная 20%С – USP L1	A		Диапазон pH 1–10, подходит для LC/MS	
		B			
		C			
C₁₈ Pyramid	C ₁₈ , эндкепированная полярными группами 14%С – USP L1	A		Устойчива в 100%-ных водных элюентах, диапазон pH 1–10, подходит для LC/MS	
		B			
		C			
Sphinx RP	Бифункциональная, обращенная фаза с пропилфенил- и C ₁₈ лигандами, эндкепированная 14%С – USP L1 и L11	A		Диапазон pH 1–10, подходит для LC/MS	
		B			
		C			
C₁₈ ec / C₈ ec	Октадецильная/октильная фаза, средней плотности, эндкепированная C ₁₈ ec: 17.5%С – USP L1 C ₈ ec: 10.5%С – USP L7	A	C ₁₈	Диапазон pH 1–9	
			C ₈		
		B	C ₁₈		
			C ₈		
		C	C ₁₈		
			C ₈		
HILIC	Цвиттерионная, аминосульфоновая модификация силикагеля 7%С	A		Диапазон pH 2–8.5, подходит для LC/MS	
		B			
		C	–		
CN / CN-RP	Циано-(нитрильная) фаза для ОФ- и НФ-разделений 7%С – USP L10	A		Диапазон pH 1–8, устойчива в водных элюентах	
		B			
		C	–		
NH₂ / NH₂-RP	Аминопропилсиликагель для ОФ- и НФ-разделений 2.5%С – USP L8	A		Диапазон pH 1–8, устойчива в водных элюентах	
		B			
		C	–		
SiOH	Немодифицированный силикагель высокой чистоты USP L3	A	–	Диапазон pH 2–8	
		B	Нет в наличии		
		C	–		

* A = гидрофобная селективность, B = полярная/ионная селективность, C = стерическая селективность.

Применение	Аналогичные сорбенты**	Принцип разделения · Механизм удерживания
Разделение соединений с ионизируемыми функциональными группами (основные фармацевтические компоненты, пестициды); для C ₈ Gravity характерно меньшее время удерживания для неполярных соединений	NUCLEOSIL C ₁₈ HD; Waters Xterra RP ₁₈ /MS C18; Phenomenex Luna C18(2), Synergi™ and Max RP; Zorbax Extend C18; Inertsil ODS III; Purospher RP-18; Star RP-18 NUCLEOSIL C ₈ HD; Waters Xterra RP ₈ /MS C ₈ ; Phenomenex Luna C8; Zorbax Eclipse; XDB-C8	Только гидрофобные взаимодействия (Ван-дер-Ваальсовы) 
Разделение позиционных и структурных изомеров (стероиды, жирорастворимые витамины), плоских и неполярных молекул (o-, m-, p-изомеры)	NUCLEOSIL C ₁₈ AB; Inertsil ODS-P; YMC Pro C18RS	Стерические и гидрофобные взаимодействия 
Разделение основных фармацевтических ингредиентов, сильнополярных соединений, органических кислот, комплексообразователей	Phenomenex Aqua; YMC AQ; Waters Atlantis dC18	Гидрофобные и полярные взаимодействия (водородные связи) 
Разделение соединений с ароматическими заместителями и кратными связями	Нет прямых аналогов	Ароматические π-π и гидрофобные взаимодействия 
Для рутинного анализа	NUCLEOSIL C ₁₈ ; Spherisorb ODS II; Hypersil ODS; Waters Symmetry C18; Inertsil ODS II; Kromasil C18; LiChrospher RP 18 NUCLEOSIL C ₈ ec/C ₈ ; Spherisorb C8; Hypersil MOS; Waters Symmetry C8; Kromasil C8; LiChrospher RP 8	Только гидрофобные взаимодействия (Ван-дер-Ваальсовы), остаточные силанольные взаимодействия 
Разделение гидрофильных соединений: полярных органических кислот и оснований, полярных природных соединений, аминокислот, нуклеозидов, пептидов, олигонуклеотидов	Merck Sequant ZIC -HILIC; Sielc Obelisc™	Ионные/гидрофильные, электростатические взаимодействия 
Разделение полярных органических соединений, молекул, содержащих π-электронные системы	NUCLEOSIL CN/CN-RP	π-π, полярные (водородные связи), гидрофобные взаимодействия 
Разделение сахаров, сахароспиртов и других гидроксисоединений, нуклеиновых оснований, других полярных соединений	NUCLEOSIL NH ₂ /NH ₂ -RP	Полярные/ионные, гидрофобные взаимодействия 
Разделение полярных соединений	Немодифицированный NUCLEOSIL	Полярные/ионные взаимодействия 

** Сорбенты с аналогичной селективностью (на основании химических и физических свойств).

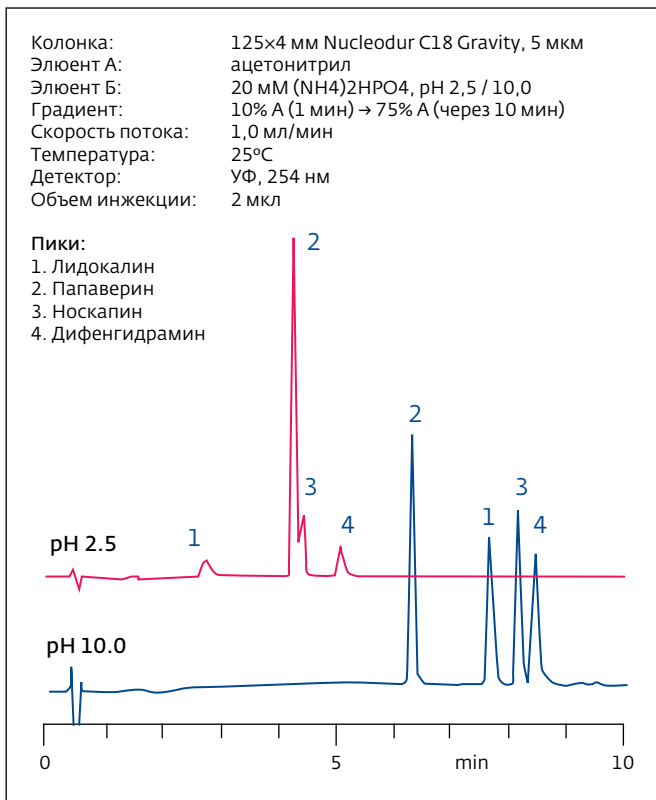


Рис.3. Разделение анестетиков ряда алкалоидов при pH 2,5 и 10

пика, невоспроизводимости времен удерживания, а иногда и к необратимой абсорбции аналита на поверхности.

Проблема остаточных силанольных групп решается в синтезе сорбентов Nucleodur с помощью процедуры дезактивирования поверхности или

энд-кэппинга (end-capping). Она заключается в дополнительной обработке уже модифицированного силикагеля низкомолекулярными силанами. При этом получают сорбенты с высокой плотностью прививки и минимальной активностью остаточных силанольных групп.

Строение поверхности сорбента определяет, каким образом и насколько сильно она взаимодействует с анализируемыми компонентами смеси, и, в конечном итоге, насколько хорошо эти вещества будут разделяться. Селективность сорбента по отношению к тем или иным соединениям напрямую зависит от природы прививки (или прививок, если их несколько) на поверхности зерен. В линии Nucleodur используется несколько типов прививок, которые обеспечивают все типы взаимодействия и, таким образом, позволяют разделять смеси практически любых составов (см. таблицу).

Разнообразие свойств и неизменно высочайшее качество новой линии сорбентов Nucleodur от компании Macherey-Nagel позволяют решить многие задачи современного фармацевтического производства: от разработки методов аналитического контроля и эффективного, производительного и надежного рутинного анализа до контроля синтеза и выделения активных фармацевтических компонентов.

Более подробную информацию о применении сорбентов Nucleodur в аналитической и производственной практике можно найти на сайте компании Macherey-Nagel www.mn-net.com или на сайте ее официального российского дилера – компании "ГалаХим" – galachem@galachem.ru, (499) 253-37-33, 253-39-33.

НОВЫЕ КНИГИ ИЗДАТЕЛЬСТВА "ТЕХНОСФЕРА"



СПЕКТРОСКОПИЯ

Бёккер Ю.

Спектроскопия ядер, атомов, ионов и молекул принадлежит сегодня к группе важнейших и наиболее распространенных методов инструментальной аналитики. Высокотехнологичные эмиссионные, абсорбционные и флуоресцентные спектрометры обеспечивают точное определение качественного и количественного состава газообразных, жидких и твердых веществ, позволяют изучать поверхностные слои материалов, проводить локальный и послойный анализ.

В настоящей монографии дается обзор различных современных методов ядерной, атомной, ионной и молекулярной спектрометрии, а также приборов, реализующих эти методы. Рассматриваются многие аналитические проблемы, решаемые в лабораториях промышленных предприятий, в естественнонаучных и технических учреждениях, а также вопросы изучения и защиты объектов окружающей среды.

Цена: 680 р.

МОСКВА: ТЕХНОСФЕРА,
 2009. – 528 с.,
 ISBN: 978-5-94836-220-5

КАК ЗАКАЗАТЬ НАШИ КНИГИ?

✉ 125319 Москва, а/я 594; ☎ (495) 956-3346, 234-0110; knigi@technosphera.ru, sales@technosphera.ru