

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОНИДАЗОЛА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЗОННОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА С УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

Тверской государственной технической университет

Противопаразитарный и антимикробный препарат метронидазол (1-(β-оксиэтил)-2-метил-5-нитроимидазол) обладает широким спектром действия в отношении простейших, а также споро- и неспорообразующих облигатных анаэробных бактерий [1].

Метод капиллярного зонного электрофореза сочетает в себе такие достоинства, как экспрессность анализа, простая пробоподготовка, малый расход реактивов, высокая эффективность разделения и простота аппаратного оформления [2].

Возможность применения метода капиллярного зонного электрофореза для определения метронидазола показана в работе [3]. Для регистрации зоны препарата, выходящей из капилляра, авторы применяли амперометрическое детектирование. Данный способ используется редко, т.к. большинство коммерчески доступных систем оборудовано фотометрическими детекторами с источником УФ-излучения.

Цель настоящей работы — разработка метода анализа метронидазола на системе капиллярного электрофореза с УФ-детектированием. Быстрый, точный и простой метод анализа метронидазола позволит осуществлять качественные клинические анализы, а также контролировать качество лекарственных средств на более высоком уровне.

### Экспериментальная часть

В качестве образца сравнения использовали препарат Метрогил® (“Дж. Б. Кемикалс энд Фармасьютикалс Лтд.”, США), представляющий собой водный раствор метронидазола с концентрацией 5 мг/мл. Для приготовления фонового электролита использовался

тетраборатный буфер (стандарт – титр) с концентрацией 0,01 М (рН 9,18).

Разработка и апробация метода проводилась на системе капиллярного электрофореза “Капель-105” (НПФ АП “Люмэкс”, Россия). В системе использовался источник высокого напряжения положительной полярности (1–25 кВ) и не модифицированный гибкий кварцевый капилляр с внешним полиамидным покрытием. Размеры капилляра: общая длина 70 см, длина до детектора 60,5 см, внутренний диаметр 75 мкм. Регистрация определяемого компонента проводилась с помощью встроенного фотометрического детектора с изменяемой длиной волны (190–380 нм). Запись и обработка данных осуществлялась с использованием программного обеспечения “МультиХром” (ЗАО “Амперсенд”, Россия). Предварительная подготовка капилляра к электрофорезу, фильтрация и дегазация проб и буферных растворов осуществлялись в соответствии с прилагаемой методикой [4]. Ввод пробы осуществлялся в гидродинамическом режиме. Анализ проводился при значении рабочего напряжения +20 кВ и температуре 20 °С.

### Результаты и их обсуждение

Анализ метронидазола проводили при положительной полярности высоковольтного блока. Движение электроосмотического потока (ЭОП) в данном случае направлено от анода (+) к катоду (–). Регистрация определяемого компонента осуществлялась при длине волны детектора 277 нм, значение которой является оптимальным [5].

Для гидродинамического ввода пробы в капилляр было признано лучшим значение, лежащее в пределах 10–20 с. При увеличении его до 25–30 с на электрофореграмме наблюдалось уширение пика метронида-

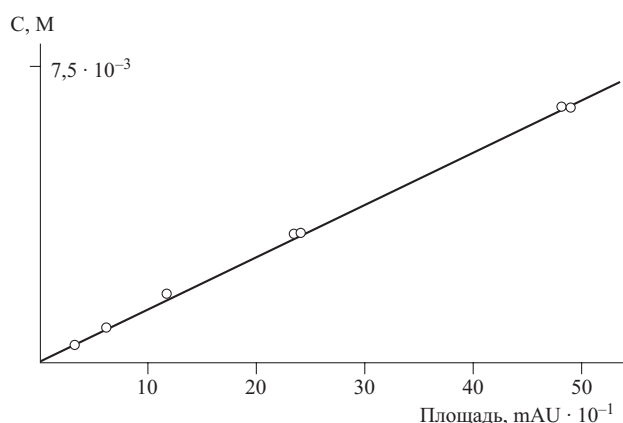


Рис. 1. Градуировочная зависимость для области высоких концентраций.

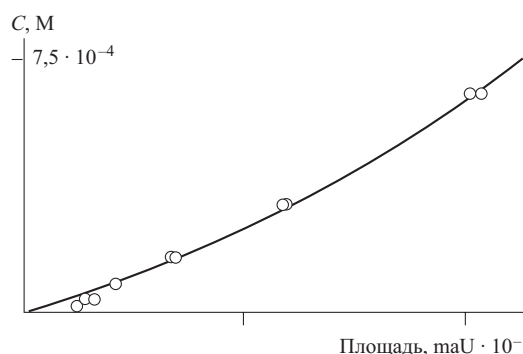


Рис. 2. Градуировочная зависимость для области низких концентраций.

### Метрологические характеристики метода определения метронидазола

Диапазон рабочих концентраций, М	Среднеквадратичное отклонение, %	Коэффициент корреляции
$1,5 \cdot 10^{-4} - 5,8 \cdot 10^{-3}$	2,298	0,999699
$1,8 \cdot 10^{-5} - 1,5 \cdot 10^{-4}$	8,205	—

зола. В области малых концентраций ( $1,8 \cdot 10^{-5} - 1,5 \cdot 10^{-4}$  М) уменьшение времени ввода пробы приводило к снижению чувствительности.

В качестве электролита использовался как и в работе [6] 0,01 М раствор тетрабората натрия (рН 9,18). Величина ЭОП имеет в данном случае довольно высокое значение ( $\sim 6,5 \cdot 10^{-4}$  см<sup>2</sup>/В · с), что повышает эффективность разделения.

Разрешение пиков улучшается при увеличении рабочего напряжения [7]. Приемлемым для анализа метронидазола оказалось значение рабочего напряжения + 20 кВ. При этом время анализа составляет 9 мин, а сила тока достигает 43 – 45 мкА.

С помощью программного обеспечения “МультиХром” для метронидазола были построены две градуировочные зависимости (для областей высоких и низких концентраций) и определены градуировочные коэффициенты, связывающие концентрацию препарата с откликом детектора (площадью пика).

В области высоких концентраций ( $1,5 \cdot 10^{-4} - 5,8 \cdot 10^{-3}$  М) градуировочная зависимость носит ли-

нейный характер (рис. 1). Для области низких концентраций ( $1,8 \cdot 10^{-5} - 1,5 \cdot 10^{-4}$  М) градуировочная зависимость описывается степенной функцией (рис. 2).

Полученные значения среднеквадратичного отклонения (СКО) и коэффициентов корреляции приведены в таблице. Отклонение по времени миграции метронидазола находится в пределах 0,1 – 0,2 с.

Анализ метронидазола методом капиллярного зонного электрофореза, описанный в данной работе, отличается простотой, быстрым временем анализа (~10 мин) и хорошей воспроизводимостью опытов.

Метод был применен для исследования диффузии метронидазола из хитозан-альгинатных микрокапсул.

### ЛИТЕРАТУРА

1. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Т. 2, Медицина, Москва (1993), сс. 425 – 426.
2. F. Couderc, E. Causse, N. Simeon, et al., *Am. Lab.*, No. 2, 46 – 49 (2001).
3. W. Jin, W. Li, Q. Xu, et al., *Electrophoresis*, **21**(7), 1409 – 1414 (2000).
4. Система капиллярного электрофореза “Капель”. *Руководство по эксплуатации 105.00.00.00.00.РЭ.*, ООО “Люмэкс”, Санкт-Петербург (2001), с. 71.
5. С. С. Стебунов, П. В. Ореховский, В. К. Окулич, *Иммунопатология*, № 1, 25 – 29 (2000).
6. Н. В. Комарова, Л. А. Карцова, *Ж. аналит. химии*, **57**(7), 766 – 772 (2002).
7. Х. Энгельгардт, *Руководство по капиллярному электрофорезу*, Научный совет Российской академии наук по хроматографии, Москва (1996), с. 25.

Поступила 12.05.03.