



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

219654

(11)

(B1)

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

(22) Prihlášené 11 10 80

(21) (PV 6891-80)

(40) Zverejnené 27 08 82

(45) Vydané 01 12 85

(51) Int. Cl.³

G 01 N 31/08

(75)

Autor vynálezu

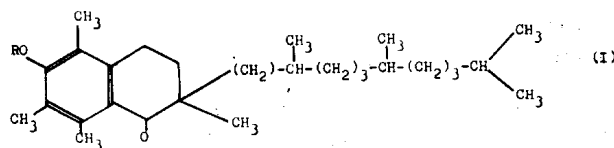
PROKSA BOHUMIL ing. CSc., PIKALA MILOŠ ing.,
ZEISELOVÁ MÁRIA ing., HLOHOVEC

(54) Spôsob stanovenia dl- α -tokoferylacetátu a dl- α -tokoferolu kvapalinovou chromatografiou

Vynález rieši spôsob stanovenia dl- α -tokoferylacetátu a dl- α -tokoferolu v technických, alebo prečistených produktoch ich výroby, alebo vo farmaceutických prípravkoch metódou kvapalinovej chromatografie na náplniach typu silikagelu pokrytom okta-decylsilánovými skupinami pričom časť pôvodne prítomných silanolových skupín je blokovaná metylovými skupinami, alebo na nepolárnych organických sorbentoch pripravených kopolymeráciou 2-hydroxyetylmetakrylátu s etyléndimetakrylátom modifikovaným stearyláciou, s naftalénom ako vnútorným štandardom a elučným roztokom tvoreným zmesou metanol – octan etylnatý.

Vynález sa týka spôsobu stanovenia dl- α -tokoferylacetátu el-6-acetoxy-2,5, 7,8-tetrametyl-2-(4',8',12'-trimetyltridecyl)chromanu a dl- α -to-

koferolu [-6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametyl-2-(4',8',12'-trimetyltridecyl)chromanu] obecného vzorca I



v ktorom R značí skupinu-COCH₃ alebo vodík, v technických alebo prečistených produktoch ich výroby alebo vo farmaceutických prípravkoch metódou kvapalinovej chromatografie.

DL- α -tokoferylacetát možno stanoviť po predchádzajúcej niekoľkohodinovej hydrolýze titráciou síranom ceričitým (ČsL 3, str. 1183; Deutsches Arzneibuch 7, str. 953; Pharmacopoea Helvetica 6, str. 1451) alebo priamo fotometricky meraním intenzity sfarbenia komplexu vytvoreného z dl- α -tokoferylacetátu, hydroxylamínu a chloridu železitého (Drjanowska a sp. Pharmazie 29, 59, 1974). DL- α -tokoferol možno stanoviť kolorimetricky reakciou s iónmi železitými (Emmerie, Engel, Rec.Trav.Chim. 57, 1351, 1938) alebo spektrofotometricky meraním extinkcie v maxime absorpčného pásu pri 285 nm (Machek, Sci.Pharm. 34, 122, 1966). Spoločnou nevýhodou všetkých týchto stanovení je malá selektivita, stanovenie rušia vedľajšie a rozkladné produkty, stanovovaných látok. Selektívne a dostatočne presné sú stanovenia založené na chromatografických metódach. Opísané je stanovenie pomocou kvapalinovej chromatografie na náplniach so zakotvenou obrátenou fázou typu oktaedecylsilánu izokratickou elúciou vyhodnotením metódou externého štandardu (Eriksson, Sörensen Acta Pharm. Suec. 14, 475, 1977), alebo komplikovanou gradientovou elúciou s použitím cholesterylbenzoátu ako vnútorného štandardu (Barnett a sp. Anal.Chem. 52, 610, 1980). Pre stanovenie izomérov tokoferolu a tokoferylacetátu vo vzorkách biologického pôvodu je používaná adsorpčná chromatografia na kyslíčniku kremičitom (Matsuo, Tahara, Chem.P.harm.Bull. 25, 3381, 1977). Tieto postupy sú zamerané na sledovanie obsahu dl- α -tokoferylacetátu vo farmaceutických prípravkoch a vo vzorkách biologického pôvodu, neriešia však stanovenie v technických vzorkách z výroby vitamínu E, kde okrem dl- α -tokoferolu resp. dl- α -tokoferylacetátu sa nachádzajú rozkladné a vedľajšie produkty ich syntézy. Ďalšou nevýhodou známych postupov je, že sú vypracované na nákladných separačných kolónach.

Uvedené nedostatky sa podarilo odstrániť vypracovaním spôsobu stanovenia dl- α -tokoferylacetátu a dl- α -tokoferolu kvapalinovou chromatografiou tým spôsobom, že vzorka rozpustená v organickom rozpúšťadle, s výhodou v metanole sa zriedi roztokom vnútorného štandardu naftalénu v metanole, pripravený roztok sa dávkuje do kolóny naplnenej

silikagelom pokrytým oktaedecylsilánovými skupinami pričom časť pôvodne prítomných silanolových skupín je blokovaná metylovými skupinami, alebo makroporéznym nepolárnym organickým sorbentom pripraveným kopolymeráciou 2-hydroxymetylmetakrylátu s etyléndimetakrylátom modifikovaným stearoyláciou, jednotlivé látky sa eluujú zmesou metanolu s octanom etylnatým v objemovom pomere 95 : 5 až 100 : 0.

Bližšie podrobnosti spôsobu stanovenia podľa vynálezu sú zrejmé z uvedených príkladov.

Príklad 1:

Stanovenie dl- α -tokoferylacetátu v destilovanom produkte

0,150 g vzorky sa rozpustí v 5 ml etylacetátu, pridá sa 1 ml roztoku vnútorného štandardu obsahujúceho 0,0085 g naftalénu v metanole a objem sa doplní do 25 ml metanolom. Z tohoto roztoku sa dávkuje 10 μ l do chromatografu.

Podmienky stanovenia: kolóna dĺžky 250 mm, prierezu 4 mm, naplnená sférickým sorbentom tvoreným silikagelom pokrytým oktaedecyllovými skupinami pričom časť pôvodne prítomných silanolových skupín je blokovaná metylovými skupinami (Separon Si C-18) s priemernou veľkosťou častíc 10 μ m; mobilná fáza zloženia metanol - etylacetát 97 : 3, prietok 1 cm³.min⁻¹, teplota 35 °C. Na detekciu sa použije detektor s meniteľnou vlnovou dĺžkou, nastavený na 285 nm. Koncentrácia stanovovanej látky sa vypočíta podľa vzťahu:

$$\% \text{ stanovovanej látky} = \frac{N_s \cdot RF \cdot P_n \cdot 100}{N_n \cdot P_s}$$

kde N_s značí navážku vnútorného štandardu

N_n značí navážku vzorky

RF značí responzný faktor stanovovanej látky

P_n značí plošný ekvivalent stanovovanej látky

P_s značí plošný ekvivalent vnútorného štandardu

Príklad 2:

Stanovenie DL- α -tokoferolu v surovom produkte

0,200 g vzorky sa rozpustí v 5 ml etylacetátu, pridá sa 1 ml roztoku vnútorného štandardu obsahujúceho 0,0085 g naftalénu v metanole a objem sa doplní do 25 ml metanolom. Z tohoto roztoku sa dávkuje 10 μ l do chromatografu.

Podmienky stanovenia: kolóna dĺžky 250 mm, prierezu 8 mm, naplnená sorbentom pripraveným kopolyméráciou 2-hydroxymetylmakrylátu etyléndimetakrylátom modifikovaným stearyláciou (Separon 40 S) s priemernou veľkosťou častíc 10 μm ; elúcia metanolom, prietok 3 $\text{cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, teplota 30 °C. Koncentrácia stanovovanej látky sa vypočíta podľa vzťahu uvedeného v príklade 1.

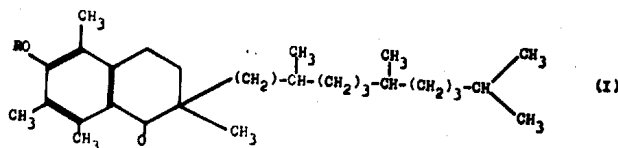
Príklad 3:

Stanovenie dl- α -tokoferylacetátu nanoseného na Siloxide

1,000 g vzorky sa pretrepáva 4-krát po 5 minút zmesou etanol-cyklohexán (1 : 1 objemove), odstredí sa, supernatant sa prenesie do odmernej banky objemu 25 ml, pridá sa 1 ml vnútorného štandardu obsahujúceho 0,0085 g naftalénu v metanole a objem sa doplní metylalkoholom po značku. Z tohoto roztoku sa dávkuje 10 μl do chromatografu. Podmienky stanovenia sú rovnaké ako v príklade 1.

PREDMET VYNÁLEZU

1. Spôsob stanovenia dl- α -tokoferylacetátu a dl- α -tokoferolu kvapalinovou chromatografiou obecného vzorca I



v ktorom R značí skupinu $-\text{COCH}_3$ alebo vodík, v technických alebo prečistených produktoch ich výroby alebo vo farmaceutických prípravkoch kvapalinovou chromatografiou vyznačujúci sa tým, že vzorka rozpustená v organickom rozpúšťadle, s výhodou v metanole, sa zriedi roztokom vnútorného štandardu naftalénu v metanole, pripravený roztok sa dávkuje do kolóny naplnenej silikagelom pokrytým oktaedecylsilánovými skupinami pričom časť pôvodne prítomných silanolových skupín je bloko-

vaná metylovými skupinami a jednotlivé látky sa eluujú zmesou metanolu s octanom etylnatým v objemovom pomere 95 : 5 až 100 : 0.

2. Spôsob podľa bodu 1 vyznačujúci sa tým, že pripravený roztok sa dávkuje do kolóny naplnenej makroporéznym nepolárnym organickým sorbentom pripraveným kopolyméráciou 2-hydroxyetylmetakrylátu s etyléndimetakrylátom modifikovaným stearyláciou.