

PRIMJENA EKOLOŠKI PRIHVATLJIVE MICELARNE TEČNE HROMATOGRAFIJE U FARMACEUTSKOJ ANALIZI

Jasmina Šljivić¹, Isidora Milanović², Ljiljana Tomić³, Aleksandra Mesarović⁴

Apstrakt

Najčešće korištena metoda za farmaceutsku analizu je reverzno-fazna tečna hromatografija visokih performansi. Micelarna tečna hromatografija predstavlja alternativu ovim metodama zbog primjene micelarnih mobilnih faza, što je izuzetno važno sa aspekta zelene hemije. U ovoj metodi se koriste iste kolone, detektori i injektori kao u tradicionalnim metodama reverzno-fazne tečne hromatografije visokih performansi. Cilj ovog rada je dati prikaz osobina mobilnih i stacionarnih faza koje se primjenjuju u micelarnoj tečnoj hromatografiji sa posebnim osvrtom na pravilan odabir surfaktanata koji omogućavaju separaciju analiziranog uzorka. Takođe je detaljno analizirano i hromatografsko ponašanje ispitivanog uzorka jer se u prisustvu micela supstance različito ponašaju zbog višestrukih interakcija. Doprinos ovog rada se ogleda i u pruženom jasnom prikazu prednosti, ograničenja i savremene primjene micelarne tečne hromatografije.

Ključne riječi: Micelarna tečna hromatografija, surfaktant, micelarna hibridna mobilna faza.

Uvod

Farmaceutska analiza lijekova zahtijeva primjenu osjetljivih metoda koje imaju za cilj da obezbijede visok stepen selektivnosti za identifikaciju, razdvajanje i kvantifikaciju višekomponentnih farmaceutskih oblika. Ove metode se takođe primjenjuju za ispitivanje stepena čistoće (Malenović i Stojanović, 2010). Savremene metode u analitici lijekova koje se koriste za rutinska ispitivanja,

¹ Jasmina Šljivić, Ph.D., Docent, Univerzitet „Bijeljina“, Farmaceutski fakultet, Pavlovića put 024, 76300 Bijeljina, Bosna i Hercegovina, Tel.: +38761641232, E-mail: jasminasljivic86@gmail.com

² Isidora Milanović, Ph.D., Profesor strukovnih studija, Akademija strukovnih studija Beograd, Odsek Visoka zdravstvena škola, Cara Dušana 254, 11 080 Zemun, Srbija, Tel.: +38163425373, E-mail: i.milanovic007@gmail.com

³ Ljiljana Tomić, Ph.D., Redovan profesor, Univerzitet „Bijeljina“, Farmaceutski fakultet, Pavlovića put 024, 76300 Bijeljina, Bosna i Hercegovina, Tel.: +38765512481, E-mail: ljiljanatomic1965@gmail.com

⁴ Aleksandra Mesarović, Ph.D., Docent, Univerzitet „Bijeljina“, Farmaceutski fakultet, Pavlovića put 024, 76300 Bijeljina, Bosna i Hercegovina, Tel.: +38766237202, E-mail: krsmanovic.sandra88@gmail.com

ispitivanja kvaliteta, istraživanje i razvoj se uglavnom zasnivaju na hromatografskim tehnikama. Najširu primjenu ima tečna hromatografija visokih performansi (eng. *high performance liquid chromatography*, HPLC). Sve razvijene metode je neophodno optimizirati po pitanju kritičnih parametara separacije i validirati. Posebna pažnja se mora usmjeriti na razmatranje sigurnosti analitičara i uticaja metode na životnu sredinu.

Posljednjih godina se primjenjuje koncept zelene hemije kao vodič za razvoj novih analitičkih metoda. U analitici lijekova se opsežno primjenjuje pravilo 3R (eng. *Reduce-replace-Recycle*). Cilj je da se razvijaju nove hromatografske metode kod kojih će biti smanjen utrošak toksičnih organskih rastvarača ili će ti rastvarači biti i u potpunosti zamijenjeni manje toksičnim. Preporuka je takođe da se primjenjuju rastvarači koje je moguće prerađivati. Voda, metanol, etanol i aceton su najčešće korištene komponente zelene mobilne faze (Otašević i sar., 2015).

Mobilna i stacionarna faza u micelarnoj tečnoj hromatografiji

Micelarna tečna hromatografija (eng. *micellar liquid chromatography*, MLC) je metoda koja predstavlja alternativu konvencionalnim HPLC metodama. Ova metoda pokazuje znatno veću selektivnost pri istovremenom razdvajanju hidrofobnih i hidrofilnih analita koji su prisutni u jednoj hromatografskoj analizi i to bez primjene gradijentnog eluiranja, a sve zahvaljujući različitim interakcijama koje nastaju između analizirane supstance, mobilne i stacionarne faze (El-Sherbiny et al., 2003).

U MLC se koriste iste kolone, detektori i injektori kao i u tradicionalnim HPLC metodama. Najčešće se kao stacionarna faza primjenjuje C18 kolona, a kao mobilna faza vodeni rastvori površinski aktivnih supstanci (eng. *surface active agents*, surfaktanti) iznad njihove specifične kritične micelarne koncentracije. Surfaktanti spadaju u amfifilne molekule koje imaju hidrofobni i hidrofilni dio. Hidrofobni dio predstavlja „rep“, a hidrofilni dio „glavu“ molekule, pri čemu jedan dio molekule ima snažan afinitet za nepolarne rastvarače i ulje, a drugi dio za polarne rastvarače i vodu. Molekule formiraju micelle pri koncentracijama koje su veće od kritične micelarne koncentracije (Cuenca-Benito et al., 1998; Khaledi, 1997; Mohajeri and Noudeh, 2012; Ruiz-Ángel et al., 2009).

Surfaktanti modifikuju interakcije i smanjuju količinu organskih rastvarača u mobilnoj fazi koja se može regenerisati zbog visoke tačke ključanja (Kumar et al., 2023). Hidrofobni dio surfaktanta je najčešće dugi ugljikovodonični niz koji se usmjerava prema unutrašnjosti micelle i formira jezgro koje je od rastvarača zaštićeno polarnim grupama. Polarna glava je vezana za terminalni dio alkilnog lanca čija je dužina od 8 do 18 ugljikovih atoma. Fizičke i hemijske osobine surfaktanta uslovljava dužina i stepen grananja lanca kao i položaj polarne grupe (Holmberg et al., 2003).

Surfaktanti se razlikuju po naboju „glave“ molekule i dijele se na anionske, kationske, nejonske i *zwitter*-jonske. U odnosu na prirodu hidrofobnog dijela razlikuju se surfaktanti ugljikovodika ili fluoriranih ugljikovodika (Khaledi,

1997). Dobar MLC surfaktant ima nisku kritičnu micelarnu koncentraciju, agregacioni broj i ukoliko je surfaktant naelektrisan treba da ima nisku Kraft-ovu tačku (Kumar et al., 2023). Od presudne važnosti je izvršiti pravilan odabir surfaktanta koji će omogućiti razdvajanje smjese sastavljene od polarnih i nepolarnih supstanci (Ruiz-Ángel et al., 2009).

Anionski surfaktanti disociraju u vodi i to na amfifilni anion i kation koji je ili alkalni metal ili kvaternerni amonijum. Polarne grupe anionskih surfaktanata mogu biti karboksilat, fosfat, sulfat i sulfonat. U opsežno korištene anionske surfaktante spadaju sapuni, lauril sulfat, alkilbenzen sulfonati, di-alkil sulfosukcinat ili lignosulfonat (Holmberg et al., 2003; Salager, 2002).

Kationski surfaktanti u vodi disociraju na amfifilni kation i anion koji je najčešće halogenog tipa. Kationi su amini i kvaternerni amonijum koji ima jedan ili više dugih alkilnih lanaca koji često vodi porijeklo od prirodnih masnih kiselina.

Molekule surfaktanta koje pokazuju i anionsku i kationsku disocijaciju se nazivaju amfoternim ili *zwitter*-jonskim molekulama. U ovoj grupi se nalaze heterogeni surfaktanti koji mogu biti neosjetljivi na pH. S druge strane, neki mogu biti kationski na niskoj pH vrijednosti, a anionski pri visokoj pH vrijednosti sa amfoternim osobinama koje pokazuju pri srednjim pH vrijednostima.

Nejonski surfaktanti zbog nedisocijabilnih hidrofилnih grupa kao što su alkohol, eter, amid ili ester ne podliježu jonizaciji u vodenom rastvoru, a većinom se radi o hidrofилnim molekulama zbog prisustva polietilenskog glikolnog lanca koji se dobija od etilen oksida nakon njegove polikondenzacije. Glukozidne grupe na „glavi“ molekule se uvode u cilju postizanja niže toksičnosti. Lipofilna grupa može biti alkil ili alkilbenzen i vodi porijeklo od prirodnih masnih kiselina. Polikondenzacijom propilen oksida nastaje blago hidrofoban polietar koji se upotrebljava kao lipofilna grupa u poliEO-poliPO kopolimeru (Mishra et al., 2009; Salager, 2002).

Najčešće korišteni surfaktanti su natrijum dodecil sulfat (SDS), katjonski cetiltrimetil amonijum bromid i nejonski polioksietilen-(23)-dodecil eter (Brij-35). SDS efikasno rastvara proteine u fiziološkom matriksu (urin, plazma, serum) što omogućava direktno uvođenje uzorka u hromatograf bez prethodnog tretmana nakon filtriranja. Direktno injiciranje uzorka nije moguće pri korištenju katjonskih surfaktanata (Kumar et al., 2023).

Mobilna faza sastavljena od čistog micelarnog rastvora ima brojne prednosti zbog niske cijene, smanjene toksičnosti, povećane stabilnosti, kao i veće ekološke prihvatljivosti i sigurnosti. Micelarna mobilna faza efikasno zadržava organske rastvarače što smanjuje mogućnost isparavanja, dok micelarna faza ostaje duže stabilna. Pod pojmom hibridne micelarne mobilne faze se podrazumijeva ona koja u svom sastavu sadrži micelle i monomere surfaktanta, kao i molekule organskog rastvarača, slobodne ili u vezanom obliku za surfaktant i vodu. Neophodno je dodati male količine organskog rastvarača u micelarni rastvor kako bi se postiglo odgovarajuće zadržavanje u adekvatnom vremenu. Organski rastvarač takođe poboljšava efikasnost, rezoluciju i eluacionu moć mobilne faze. U micelarnu mobilnu fazu se dodaje mali procenat organskih rastvarača, ne više od 15% (v/v)

do 20% (v/v). Veći procenat ugrožava i razara strukturu micela (Boichenkoa and Berthod, 2010; Kawczak and Bączek, 2012; Kumar et al., 2023; Ruiz-Ángel et al., 2009; Thomas and Foley, 2007). Često se dodaju alkoholi koji imaju kratki lanac i to u opsegu od 2% (v/v) do 5% (v/v) (Otašević i sar., 2015).

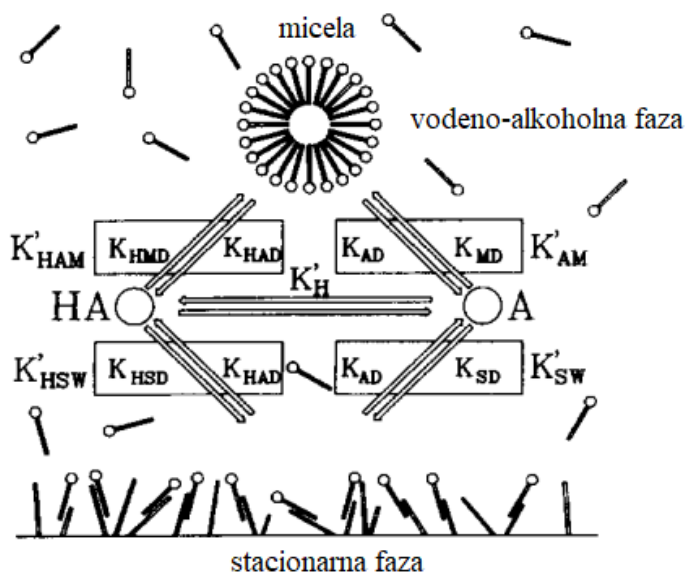
Važno je voditi računa i o pH vrijednosti pri razvoju MLC jer pH treba biti u opsegu 2.5-7.5, što prvenstveno ovisi o količini surfaktanta i o korištenom analitu. Najčešće se koristi kiseli pufer kao što je pufer citratne kiseline ili pufer fosforne kiseline. Varijacije retencionog vremena promjenom količine surfaktanta i volumena organskog modifikatora olakšavaju optimizaciju razdvajanja (Kumar et al., 2023).

Hromatografsko ponašanje analita u MLC

Koncentracija slobodnog surfaktanta u vodenoj fazi je u ravnotežnom obliku sa surfaktantom koji je adsorbovan na stacionarnoj fazi i micelama. Monomerni jonski surfaktanti su na površinu stacionarne faze adsorbovani hidrofobnim interakcijama koje se uspostavljaju između repa surfaktanta i alkilnog radikala stacionarne faze. Ovakva raspodjela uslovljava da naelektrisana glava surfaktanta ostane u kontaktu sa vodenom fazom. Zbog izuzetne kompleksnosti hromatografskog sistema tumačenje retencije komponente je veoma složeno (Otašević i sar., 2015).

U prisustvu micela supstanca se može različito ponašati zbog višestrukih interakcija. Rastvorena supstanca može biti izvan micela, vezana za polarni dio surfaktanta, može proći u jezgro micela ili se može inkorporirati u spoljašnji sloj. Moguće je i vezivanje supstanci hidrofobnim vezama sa nepolarnim repom surfaktanta ili za stacionarnu fazu koja nije modifikovana. Moguće je i stvaranje polarnih interakcija supstance sa jonskom glavom surfaktanta. Polarne interakcije supstance mogu nastati i sa slobodnim silanolnim grupama koje pripadaju stacionarnoj fazi. Ukoliko je analizirana supstanca nepolarna tada nastaju hidrofobne interakcije sa micelama i sa stacionarnom fazom. Surfaktanti mogu da privlače ili odbijaju supstance koje imaju naelektrisanje, što je uslovljeno time da li im je naelektrisanje istog ili je suprotnog znaka u poređenju sa naelektrisanjem glave surfaktanta (García-Alvarez-Coque et al., 1997).

Slika 1. Interakcije supstance i micela i interakcije supstance i stacionarne faze u micelarnim mobilnim fazama sastavljenim od surfaktanta i organskog modifikatora



Izvor: García-Alvarez-Coque et al., 1997

Za razjašnjavanje hromatografskog ponašanja analiziranog analita u MLC prvenstveno se razmatra primarna ravnoteža koja je ključna za raspodjelu supstance između stacionarne faze i rastvarača. Ekvivalentan značaj ima i sekundarna ravnoteža uspostavljena između samih micela u mobilnoj fazi. Ravnoteža raspodjele se može opisati koristeći tri koeficijenta i to P_{WS} , P_{WM} i P_{MS} . P_{WS} predstavlja raspodjelu između vodene i stacionarne faze, a P_{WM} se odnosi na raspodjelu između vodene faze i micela. Koeficijent P_{MS} ukazuje na raspodjelu supstance između micela i stacionarne faze.

Afinitet koji supstanca pokazuje prema stacionarnoj fazi i micelama ovisi od koeficijenata P_{WS} i P_{WM} koji imaju suprotan efekat u odnosu na retenciju. Zadržavanje supstance raste ukoliko je koeficijent P_{WS} veći. Ukoliko dolazi do rasta P_{WM} koeficijenta tada se smanjuje zadržavanje zato što je prisutno intenzivnije vezivanje za micela. Ukoliko ciljna supstanca nije rastvorljiva u vodi, ona se može raspodijeliti direktnim transferom između modifikovane stacionarne faze i micelarne pseudofaze (Ruiz-Ángel et al., 2009).

Prednosti MLC

Micelarni hromatografski sistem omogućava analizu širokog spektra analita koji se rastvaraju u micelarnom rastvoru. Ovo svakako čini pripremu uzoraka za analizu jednostavnijom, bržom i redukuje potrošnju organskih rastvarača. Moguće je i direktno injektovanje uzoraka porijeklom iz biološkog materijala. MLC je

korisna za analizu seruma, urina i plazme jer micelle mogu solubilizirati proteine. Jedna od osnovnih prednosti je razdvajanje supstanci koje se značajno razlikuju po polarnosti. Ovom metodom se mogu analizirati bazna i hidrofilna jedinjenja koja se eluiraju sa frontom rastvarača. Micelarnu mobilnu fazu odlikuje poboljšana stabilnost, one nisu zapaljive, biorazgradive su i manje toksične, a ujedno su i jeftinije od komercijalnih mobilnih faza (Kumar et al., 2023; Otašević i sar., 2015).

Selektivnost komponenata varira zbog različitih interakcija između rastvorene supstance, stacionarne faze, mobilne faze i micela. Jonske i nejonske komponente se mogu razdvajati primjenom istog medijuma za eluiranje. Gradijentno eluiranje nije poželjno zbog toga što je brzo postizanje perioda ravnoteže primjenom vodeno-organskih mješavina (Kumar et al., 2023).

Ograničenja MLC

Nedostatak primjene micelarne mobilne faze je u tome što primjena većih koncentracija surfaktanata može da poveća viskoznost mobilnih faza što stvara neželjeni pritisak u uređaju i ostavlja trag na ultra-ljubičastom detektoru. Mobilne faze ovakvog tipa nisu kompatibilne sa masenim detektorom zato što dolazi do promjena u signalu. MLC smanjuje efikasnost kolone zbog ograničenja transfera mase što se može ublažiti uvođenjem malih modifikatora u mobilnu fazu, smanjenjem brzine protoka i povećanjem temperature kolone. MLC ima nizak kapacitet eluiranja i efikasnosti čiste micelarne sredine. Zbog ireverzibilne adsorpcije određenih surfaktanata postoji rizik za oštećenje kolone. MLC nije uvijek najpogodniji izbor za razdvajanje hidrofobnih supstanci. Micelarni eluenti su slabiji od vodeno-organske faze (Kumar et al., 2023; Otašević i sar., 2015).

Savremena primjena MLC

MLC se primjenjuje za različite biomedicinske i okolišne studije kompleksnih smjesa i pojedinačnih komponenata. Ima veliku primjenu i u fizičko-hemijskim ispitivanjima, kao i u određivanju hidrofobnosti. Posebno se ističe primjena u farmaceutskim ispitivanjima za skrining farmaceutskih komponenti (Kawczak and Bączek, 2012). MLC se primjenjuje za identifikaciju beta-blokatora u uzorcima urina, analizu i razdvajanje neorganskih komponenti kao što su jednostavni joni, ali ipak jonoizmjenjivačka hromatografija pokazuje veću selektivnost za neorganske jone od MLC. MLC tehnika je korištena i za ispitivanje stabilnosti tri nova anti-HIV agensa, procjenu toksičnosti supstanci u uzorcima iz okoline i otrovnih aromatičnim amina. Čak i za visoko hidrofobne steroide, količina organskog rastvarača koja je neophodna za formiranje hibridnog micelnog medijuma za eluiranje je značajno manja u poređenju sa tradicionalnim HPLC metodama. Ova metoda se primjenjuje za određivanje lijekova i njihovih metabolita u fiziološkim tečnostima. Primjenom MLC je moguće razdvojiti različite grupe lijekova u farmaceutskim formulacijama. Korištenje MLC omogućava izvođenje simultane analize antiretrovirusnih lijekova abakavira, lamivudina i raltegravira u plazmi, kao i analizu lamivudina, tenofovira i efavirenca u serumu. Darunavir, ritonavir, emtricitabin i tenofovir se

takođe analiziraju primjenom MLC. Kvantifikacija metformina, nateglinida i gliklazida se vrši primjenom jednostavne, precizne i brze MLC. Brza kvantifikacija antitumorskih lijekova promjenom koncentracije surfaktanta koji se koristi kao mobilna faza se efikasno izvodi ovom tehnikom. MLC se koristi i za analizu kardijalnih lijekova, analizu aspirina, atorvastatina, metformina i metoprolola, kao i za analizu furosevida, metoprolola i verapamila (Kumar et al., 2023). Razvijena je i micelarna metoda za praćenje stabilnosti za analizu cilazaprila, hidrohlorotiazida i njihovih degradacionih proizvoda primjenom izokraskog načina eluiranja sa niskom potrošnjom toksičnih organskih modifikatora (Otašević i sar., 2019).

Zaključak

MLC predstavlja novu hromatografsku metodu u kojoj je redukovana količina primijenjenog organskog rastvarača i koja se razvija s ciljem uvođenja rješenja koja će biti ekološki prihvatljivija u odnosu na tradicionalanu HPLC. Ova metoda pokazuje selektivnost pri istovremenoj separaciji hidrofobnih i hidrofilnih supstanci u jednoj hromatografskoj analizi zahvaljujući raznovrsnim interakcijama između analizirane supstance, mobilne i stacionarne faze. Mobilna faza ima brojne prednosti po pitanju isplativosti, veće stabilnosti, smanjene toksičnosti i veće ekološke prihvatljivosti i smanjenog uticaja razarajućeg otpada na okolinu. Izuzetno kompleksan hromatografski sistem uslovljava veoma složeno tumačenje zadržavanja komponenata pri čemu se razmatra primarna ravnoteža koja je odgovorna za raspodjelu supstance između stacionarne faze i rastvarača, kao i sekundarna ravnoteža koja se uspostavlja između micela. Dodatne prednosti micelnog hromatografskog sistema se ogledaju u analizi širokog spektra analita, jednostavnijem i bržem pripremanju uzoraka kao i direktnom injektovanju uzoraka biološkog porijekla. Najznačajnija ograničenja primjene ove metode su u tome što prisustvo većih koncentracija surfaktanta povećava viskoznost mobilnih faza i što ove mobilne faze nisu kompatibilne sa masenim detektorom. MLC se uspješno koristi za identifikaciju, kvantifikaciju i praćenje stabilnosti različitih grupa lijekova.

Literatura

1. Boichenkoa, A.P., Berthod, A. (2010). Aliphatic carboxylic acids and alcohols as efficiency and elution strength enhancers in micellar liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1217(36), 5665-5673. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.07.001>.
2. Cuenca-Benito, M., Sagrado, S., Villanueva-Camanas, R.M., Medina-Hernández, M.J. (1998). Quantitative retention–structure and retention–activity relationships of barbiturates by micellar liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 814 (1-2), 121-132. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00375-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00375-6).
3. El-Sherbiny, D.T.M., El-Ashry, S.M., Mustafa, M.A., El-Emam, A.A., Hansen, S.H. (2003). Evaluation of the use of microemulsions as eluents in

- high-performance liquid chromatography. *Journal of Separation Science*, 26, 503-509. <https://doi.org/10.1002/jssc.200390067>.
4. García-Alvarez-Coque, M.C., Torres-Lapasió, J.R., Baeza-Baeza, J.J. (1997). Modelling of retention behaviour of solutes in micellar liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 780(1-2), 129-148. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00051-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00051-4).
 5. Holmberg, K., Jönsson, B., Kronberg, B., Lindman, B. (2003). *Surfactants and polymers in aqueous solution*, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd, England, United Kingdom.
 6. Kawczak, P., Bączek, T. (2012). Recent theoretical and practical applications of micellar liquid chromatography (MLC) in pharmaceutical and biomedical analysis. *Central European Journal of Chemistry*, 10(3), 570-584. <https://doi.org/10.2478/s11532-012-0004-7>.
 7. Khaledi, M.G. (1997). Micelles as separation media in high-performance liquid chromatography and high-performance capillary electrophoresis: overview and perspective. *Journal of Chromatography A*, 780(1-2), 3-40. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00610-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00610-9).
 8. Kumar, M., Sushma, Pradhan, S., Saha, C. (2023). Micellar liquid chromatography, a green technique for analysis of drug formulations; A review. *International journal of pharmaceutical sciences and research*, 14(1), 114-128. 10.13040/IJPSR.0975-8232.14(1).114-28.
 9. Malenović, A., Stojanović, B. (2010). *Farmaceutska analiza Praktikum*, Univerzitet u Beogradu Farmaceutski fakultet, Beograd.
 10. Mishra, M., Muthuprasanna, P., Surya Prabha, K., Sobhita Rani, P., Satish Babu, I.A., Sarath Chandiran, I., Arunachalam, G., Shalini, S. (2009). Basics and potential applications of surfactants – A review. *International Journal of PharmTech Research*, 1(4), 1354- 1365. https://www.researchgate.net/publication/237216711_Basics_and_Potential_Applications_of_Surfactants_-_A_Review.
 11. Mohajeri, E., Noudeh, G.D. (2012). Effect of temperature on the critical micelle concentration and micellization thermodynamic of nonionic surfactants: polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters. *E-Journal of Chemistry*, 9(4), 2268- 2274. <https://doi.org/10.1155/2012/961739>.
 12. Otašević, B., Protić, A., Golubović, J., Zečević, M. (2015). Primena koncepta razvoja ekološki prihvatljivih metoda tečne hromatografije u analitici lekova. *Arhiv za farmaciju*, 65(3), 178 – 190. 10.5937/arhfarm1503178O.
 13. Otašević, B., Šljivić, J., Protić, A., Maljurić, N., Malenović, M., Zečević, M. (2019). Comparison of AQbD and grid point search methodology in the development of micellar HPLC method for the analysis of cilazapril and hydrochlorothiazide dosage form stability. *Microchemical Journal*, 145, 655-663. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.11.033>.

14. Ruiz-Ángel, M.J., Carda-Broch, S., Torres-Lapasió, J.R., García-Álvarez-Coque, M.C. (2009). Retention mechanisms in micellar liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1216 (10), 1798-1814. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.09.053>.
15. Salager, J.L. (2002). Surfactants types and uses, FIRP booklet, E300-A, Teaching aid in surfactant science & engineering, University of Los Andes, Merida, Venezuela.
16. Thomas, D.P., Foley, J.P. (2007). Efficiency enhancements in micellar liquid chromatography through selection of stationary phase and alcohol modifier. *Journal of Chromatography A*, 1149(2), 282-293. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.03.045>.

APPLICATION OF ENVIRONMENTALLY ACCEPTABLE MICELLAR LIQUID CHROMATOGRAPHY IN PHARMACEUTICAL ANALYSIS

Jasmina Šljivić¹, Isidora Milanović², Ljiljana Tomić³, Aleksandra Mesarović⁴

Abstract

The most commonly used method for pharmaceutical analysis is reverse-phase high-performance liquid chromatography. Micellar liquid chromatography represents an alternative to these methods due to the use of micellar mobile phases, which is extremely important from the aspect of green chemistry. This method uses the same columns, detectors and injectors as in traditional high-performance reverse-phase liquid chromatography methods. The aim of this paper is to present the properties of mobile and stationary phases used in micellar liquid chromatography with special reference to the proper selection of surfactants that enable the separation of the analyzed sample. The chromatographic behavior of the analyzed sample was also analyzed in detail, because in the presence of micelles, substances behave differently due to multiple interactions. The contribution of this work is also reflected in the provided clear presentation of the advantages, limitations and contemporary applications of micellar liquid chromatography.

Key words: Micellar liquid chromatography, surfactant, micellar hybrid mobile phase

¹ Jasmina Šljivić, Ph.D., Assistant Professor, Bijeljina University, Faculty of Pharmacy, Pavlovića put 024, 76300 Bijeljina, Bosnia and Herzegovina, Phone: +38761641232, E-mail: jasminasljivic86@gmail.com

² Isidora Milanović, Ph.D., Professor of Vocational Studies, Academy of Vocational Studies Belgrade, Department of the Higher School of Health, Cara Dušana 254, 11 080 Zemun, Serbia, Phone: +38163425373, E-mail: i.milanovic007@gmail.com

³ Ljiljana Tomić, Ph.D., Full Professor, Bijeljina University, Faculty of Pharmacy, Pavlovića put 024, 76300 Bijeljina, Bosnia and Herzegovina, Phone: +38765512481, E-mail: ljiljanatomic1965@gmail.com

⁴ Aleksandra Mesarović, Ph.D., Assistant Professor, Bijeljina University, Faculty of Pharmacy, Pavlovića put 024, 76300 Bijeljina, Bosnia and Herzegovina, Phone: +38766237202, E-mail: krsmanovic.sandra88@gmail.com