

ЗАГОРИЙ В. А., РУДАЯ Н. В., МИЛИЕНКО В. А.,
БОЧАРОВА О. И., ПОНОМАРЕНКО О. Г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОСТОРОННИХ ПРИМЕСЕЙ В СУБСТАНЦИИ ИБУПРОФЕНА МЕТОДОМ СВЕРХПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Розроблена методика визначення домішок в субстанції ібупрофена методом надпродуктивної рідинної хроматографії. Проведено порівняння даної методики із використовуваним зараз методом визначення ібупрофена і його домішок високоефективною рідинною хроматографією.

Разработана методика определения примесей в субстанции ибупрофена методом сверхпроизводительной жидкостной хроматографии. Проведено сравнение данной методики с используемым в настоящее время методом определения ибупрофена и его примесей высокоэффективной жидкостной хроматографией.

The technique of admixtures determination in the substance of ibuprofen by the method of ultra performance liquid chromatography (UPLC) is developed. The comparison of this technique to the now in use method of determination of ibuprofen and its admixtures by the high performance liquid chromatography was carried out.

Введение

Важными факторами в анализе фармацевтических препаратов являются время, необходимое для его проведения, количество используемых для этого реактивов. Развиваемый в последнее время метод сверхпроизводительной жидкостной хроматографии (Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)) позволяет существенно улучшить эти показатели по сравнению с традиционной высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ). Суть нового метода состоит в том, что за счёт уменьшения диаметра зерен носителя до 1.7 мкм и меньше, при применении очень высоких давлений, удаётся эффективно разделять определяемые вещества за меньшее количество времени. При этом не только значительно увеличивается скорость и чувствительность анализа, а также обеспечивается его высокая точность и воспроизводимость результатов [1].

Целью наших исследований явилась разработка методики анализа субстанции ибупрофена (рис 1а), его идентифицируемых (рис 1б) и неидентифицируемых примесей методом сверхпроизводительной жидкостной хроматографии, а также сравнение её с используемой в настоящее время методикой анализа при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии. Эта методика описана в статье "Ibuprofen" Европейской фармакопеи и в Украинской государственной фармакопее [2].

Ибупрофен является противовоспалительным, анальгезирующим, жаропонижающим лекарственным средством и представляет собой рацемическую смесь R- и S-энантиомеров изобутилфенилпропановой кислоты (рис 1а). Это белый кристаллический порошок, практически нерастворимый в воде и хорошо растворимый в органических растворителях: этаноле, ацетоне.

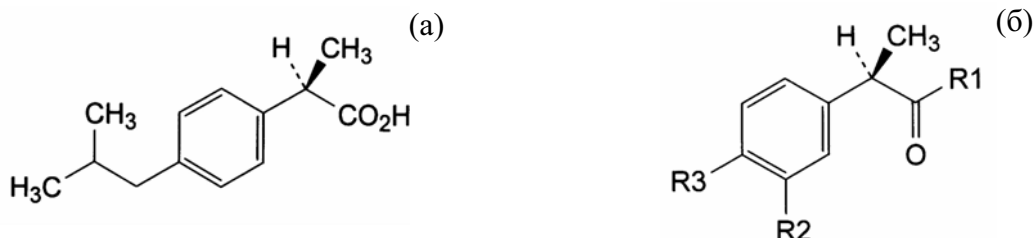


Рис 1. Структурные формулы:

а – (2RS)-2-[4-(2-метилпропил)фенил]пропановая кислота (ибупрофен);
 б – (2RS)-2-(4-бутилфенил) пропановая кислота, R1 – OH, R2 – H, R3 – (CH₂)₃-CH₃ (примесь в субстанции ибупрофена)

Экспериментальная часть

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В исследованиях использовался высокоэффективный жидкостный хроматограф, оснащённый колонкой Purospher® Star RP 18e (150 x 4,6)мм, с размером частиц 5 мкм и спектрометрическим детектором. Определение ибупрофена и его примесей проводилось при длине волны 214 нм. Как подвижные фазы использовались: подвижная фаза А – кислота фосфорная (0.5 мл): ацетонитрил (340 мл): вода (до объёма 1000мл); подвижная фаза Б – ацетонитрил. Элюирование проб проводили в градиентном режиме по программе приведенной в табл. 1. Скорость подвижной фазы – 1,7 мл/мин, объём раствора пробы, вводимой в хроматограф – 20 мкл.

Таблица 1

Программа градиентной подачи подвижных фаз при использовании метода ВЭЖХ

Время (мин)	Подвижная фаза А (объёмн. %)	Подвижная фаза Б (объёмн. %)
0-25	93	7
25-55	93→15	7→85
55-70	15	85
70-75	15→93	85→7

Перед началом анализов колонку уравнивали путём элюирования подвижной фазой А не менее 45 мин. Общее время хроматографирования проб составляет 75 мин.

Метод сверхпроизводительной жидкостной хроматографии.

Исследования проводили на жидкостном хроматографе ACQUITY™ UPLC со спектофотометрическим детектором фирмы "Waters" в следующих условиях:

- колонка Waters ACQUITY UPLCTM VEN C18, размером (50*2,1) мм, с размером частиц 1,7 мкм;
- подвижная фаза А – кислота фосфорная (0.5 мл): ацетонитрил (340 мл): вода (до объёма 1000мл); подвижная фаза Б – ацетонитрил.
- скорость подвижной фазы – 0,6 мл/мин;
- объем объема вводимой пробы – 1,5 мкл;
- детектирование при длине волны – 214 нм;
- программа градиентной подачи подвижных фаз приведена в табл. 2:

Таблица 2

Программа градиентной подачи подвижных фаз при использовании метода сверхпроизводительной жидкостной хроматографии

Время (мин)	Подвижная фаза А (объёмн. %)	Подвижная фаза Б (объёмн. %)
0-4,8	93	7
4,8-10,6	93→15	7→85
10,6-13,5	15	85
13,5-14,4	15→93	85→7

Перед началом анализов колонку уравнивают путём элюирования подвижной фазой А не менее 10 мин. При использовании данных условий общее время хроматографирования проб составляет 14,4 мин.

Результаты и их обсуждение

На основании экспериментально полученных данных установлено, что хроматографические профили раствора субстанции ибупрофена и раствора для проверки пригодности хроматографической системы, содержащий ибупрофен и его примесь, полученные методом ВЭЖХ (рис. 2, рис. 3), совпадают с профилями, полученными методом сверхпроизводительной жидкостной хроматографии (рис. 4, рис. 5).

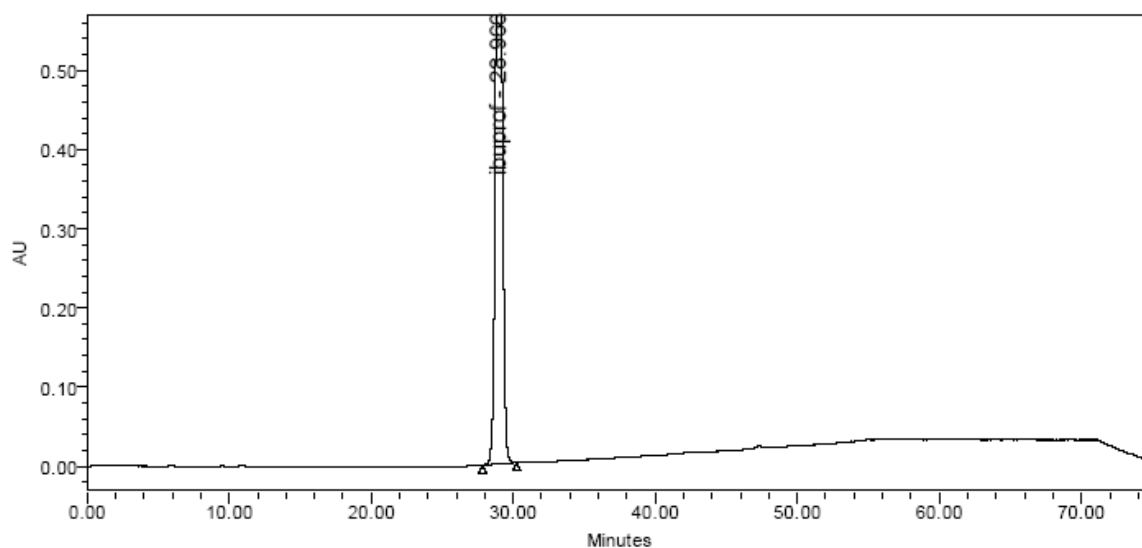


Рис. 2. Хроматограмма раствора субстанции ибупрофена (2 мг/мл), полученная методом ВЭЖХ

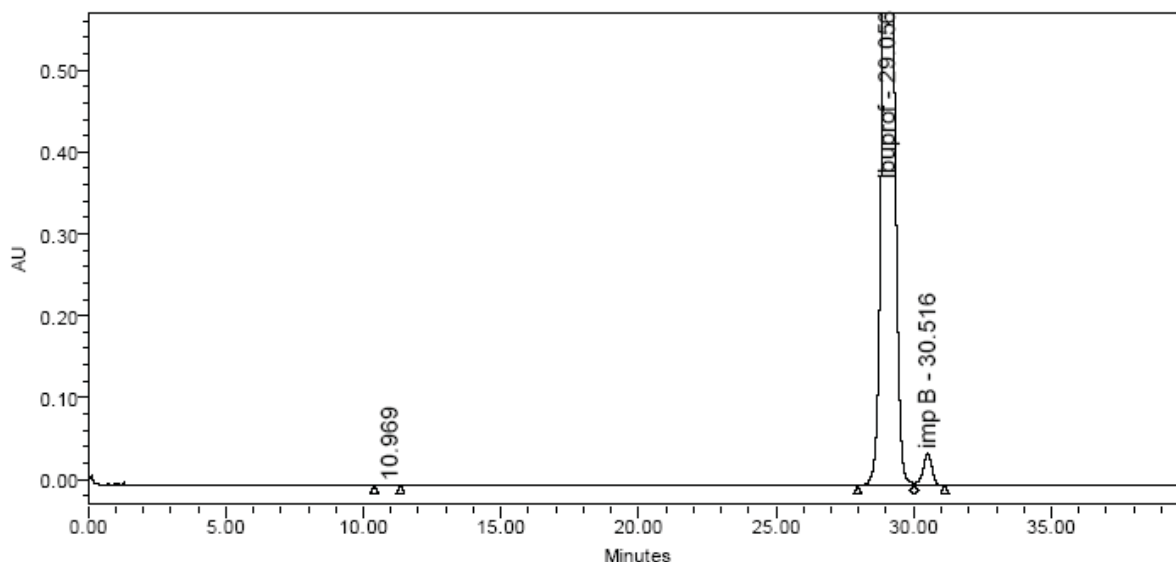


Рис. 3. Хроматограмма раствора для проверки пригодности хроматографической системы (2 мг/мл ибупрофена; 0,006 мг/мл примеси В ибупрофена), полученная методом ВЭЖХ

Коэффициент разделения (R_s), рассчитанный по приведенной ниже формуле из хроматограмм раствора для проверки пригодности хроматографической системы, для пиков ибупрофена и примеси В при использовании метода ВЭЖХ составляет 2,04, при использовании метода сверхпроизводительной жидкостной хроматографии – 2,24.

$$R_s = \frac{1.18(t_{R2} - t_{R1})}{w_{h1} + w_{h2}}$$

где:

t_{R2} ; t_{R1} – расстояние вдоль базовой линии от точки ввода пробы до перпендикуляров, опущенных из максимумов двух соседних пиков, в миллиметрах;

w_{h1} ; w_{h2} – ширина пиков на половине высоты, в миллиметрах.

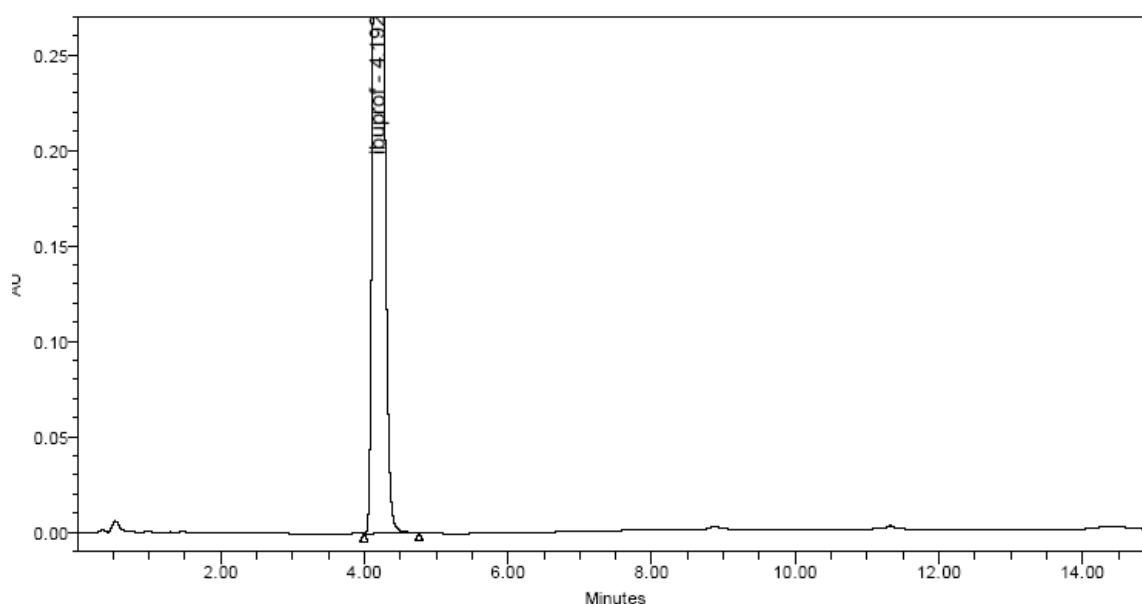


Рис. 4. Хроматограмма раствора субстанции ибупрофена (2 мг/мл), полученная методом UPLC

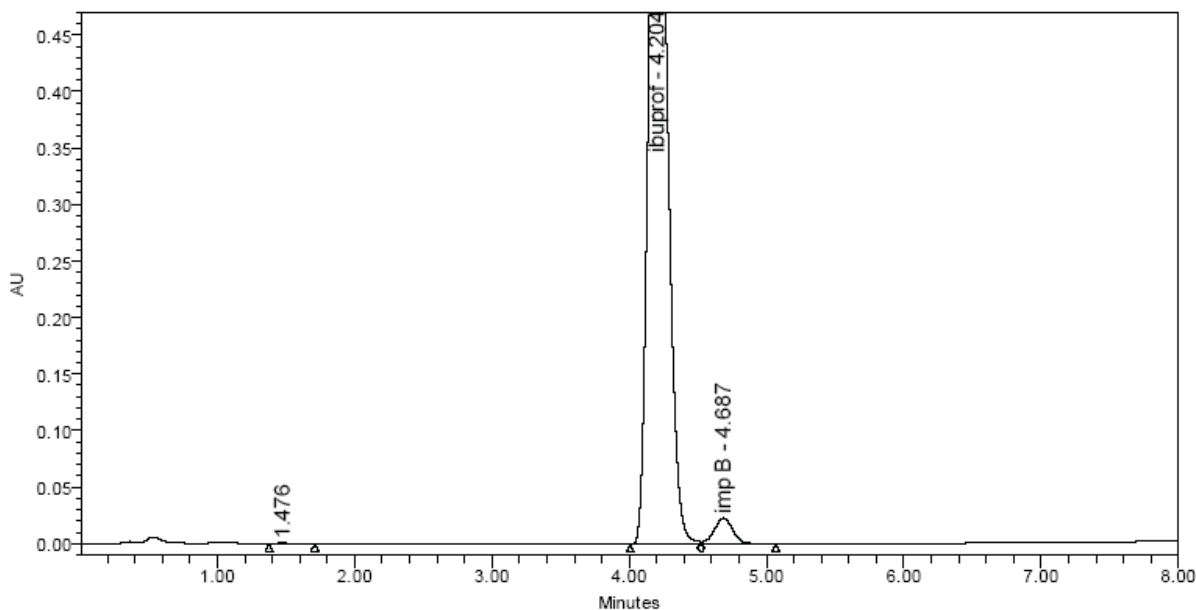


Рис. 5. Хроматограмма раствора для проверки пригодности хроматографической системы (2 мг/мл ибупрофена; 0,006 мг/мл примеси В ибупрофена), полученная методом UPLC

При фиксировании предела обнаружения (ПО) и предела количественного обнаружения (ПКО) для раствора используемого для проверки пригодности хроматографической системы установлено, что для методики ВЭЖХ предел обнаружения составляет 0,015 % (в абс. единицах); для методики UPLC – 0,015 % (в абс. единицах). ПКО для методики ВЭЖХ составляет 0,1 % (в абс. единицах), для методики UPLC – 0,03 % (в абс. единицах). Исходя из полученных значений ПКО видно, что методика UPLC в три раза чувствительнее методики ВЭЖХ.

Таким образом, при использовании метода сверхпроизводительной жидкостной хроматографии достигается фактически такая же эффективность разделения, как и при использовании метода ВЭЖХ, но время анализа сокращается в 5 раз при одновременном уменьшении расхода подвижной фазы в 15 раз. Экономия затрат времени и растворителя достигается без ухудшения результатов разделения и чувствительности анализов.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Свидро В. А.** UPLS WATERS – новые возможности жидкостной хроматографии. // Журнал Хроматографічного товариства. – 2004 – т. IV – № 3, С. 34–40.
2. Державна Фармакопея України. Перше видання. Доповнення 1. – Харків. – 2004, 353 с.

*ЗАО "Фармацевтическая фирма "Дарница",
г. Киев*

*Поступило в редакцию
25.07.2008*