

Рекламная статья / Sponsored article

## Одновременный анализ смеси фармацевтических субстанций с помощью ВЭЖХ SCION LC 6000 с диодно-матричным детектором



Авторы подготовили статью при финансовой поддержке ООО «АВРОПА»

Важной задачей фармацевтических и токсикологических лабораторий является задача быстрого и точного определения смесей активных фармацевтических ингредиентов в различных образцах, в том числе в образцах крови. В данной статье рассмотрен одновременный количественный анализ и идентификация двух распространенных фармацевтических ингредиентов (парацетамол и ибупрофен) на жидкостном хроматографе SCION LC 6000 с диодно-матричным детектором. В результате проведенного эксперимента было показано, что с помощью диодно-матричного детектора, имеющего возможность работы с несколькими длинами волн одновременно, можно определить оба вещества за один анализ. Также была показана превосходная линейность и повторяемость хроматографа SCION LC 6000, что доказывается низкими значениями RSD и высокими значениями  $R^2$ .

## Simultaneous Analysis of Combination Active Pharmaceutical Ingredients by HPLC SCION LC 6000 with Diode Array Detector

The authors prepared the article with the financial support of LLC "AVRORA"

An important problem for pharmaceutical and toxicological laboratories is quick and accurate determination of mixtures of active pharmaceutical ingredients in various samples, including blood samples. This article shows the simultaneous quantitative analysis and identification of two common pharmaceutical ingredients (paracetamol and ibuprofen) on a SCION LC 6000 liquid chromatograph with a diode array detector. As a result of the experiment, it was shown that with the help of a diode-array detector with multi-wavelength function, it is possible to determine both substances in one injection. Excellent linearity and repeatability of the SCION HPLC-DAD was demonstrated with low RSD values and high  $R^2$  values.

### ВВЕДЕНИЕ

Как рецептурные, так и безрецептурные препараты содержат как минимум один активный фармацевтический ингредиент (АФИ) – биологически активное вещество с определенной терапевтической эффективностью. Часто для лечения симптомов используется комбинация нескольких АФИ. Необходимость в точных качественных и количественных методах анализа комбинированных фармацевтических препаратов постоянно растет.

При производстве фармацевтических препаратов содержание активных ингредиентов должно строго контролироваться. Также крайне важно вести наблюдения за пациентами, принимающими комбинированные препараты в течение длительного времени, для оценки риска передозировки и/или долгосрочных побочных эффектов, связанных с хроническим воздействием АФИ.

Компания SCION Instruments предлагает использовать метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектором (HPLC-DAD) для одновременного определения двух распространенных безрецептурных препаратов; Ибупрофен и Парацетамол, часто использующихся в комби-

нации как жаропонижающие, анальгетические и противовоспалительные средства. При использовании детектора с диодной матрицей можно идентифицировать несколько АФИ за один анализ за счет возможности установки длин волн для каждого анализируемого соединения, а также использования спектров поглощения для дальнейшего подтверждения фармацевтических ингредиентов. Возможность выбора нескольких конкретных длин волн обеспечивает максимальное поглощение веществ на заданной длине волны, улучшая идентификацию.

### ЭКСПЕРИМЕНТ

Для реализации данной методики использовался жидкостной хроматограф SCION LC 6000 с диодно-матричным детектором (DAD).

Программное обеспечение CompassCDS использовалось для контроля аналитического процесса, включая сбор данных, их интерпретацию и отчет о результатах.

Калибровочные стандарты, содержащие как ибупрофен, так и парацетамол, были приготовлены в следующих концентрациях: 10, 50, 100, 200 и 400 мг/л в метаноле. Одну таблетку каждого препарата раство-

ряли в 100 мл подвижной фазы (буфер фосфорная кислота/метанол в соотношении 30:70), обрабатывали в ультразвуковой бане и добавляли еще 100 мл подвижной фазы. Далее образцы центрифугировали в течение 10 минут при скорости 3000 оборотов в минуту, а затем фильтровали через фильтр с диаметром пор 0,2 мкм. Приготовленные образцы переносили в вials автоподатчика SCION LC 6000.

В случае проведения определения парацетамола и ибупрофена в образцах крови нужно провести предварительную экстракцию растворителем. Условия для проведения анализа на хроматографе SCION LC 6000 можно увидеть в таблице 1.

**Таблица 1. Аналитические условия HPLC-DAD**

**Table 1. Analytical Conditions of HPLC-DAD**

| Условия проведения анализа<br>Conditions |                                                                                                    |
|------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Колонка<br>Column                        | C18 250 мм × 4,6 мм, 5 мкм<br>C18 250 mm × 4.6 mm, 5 microns                                       |
| Температура<br>Temperature               | 25 °C                                                                                              |
| Элюент<br>Mobile phase                   | A: фосфатный буфер<br>B: метанол<br>A: phosphate buffer<br>B: methanol                             |
| Градиент<br>Gradient                     | 0–6 мин: B – 70 %<br>6.1–15 мин: B – 90 %<br>0–6 min: B – 70 %<br>6.1–15 min: B – 90 %             |
| Скорость потока<br>Flow rate             | 1 мл/мин<br>1 ml/min                                                                               |
| Параметры детектора<br>Detection         | 220–400 нм<br>Ибупрофен: 237 нм<br>Парацетамол: 254 нм<br>Ibuprofen: 237 nm<br>Paracetamol: 254 nm |
| Объем вводимой пробы<br>Injection volume | 20 мкл<br>20 µl                                                                                    |

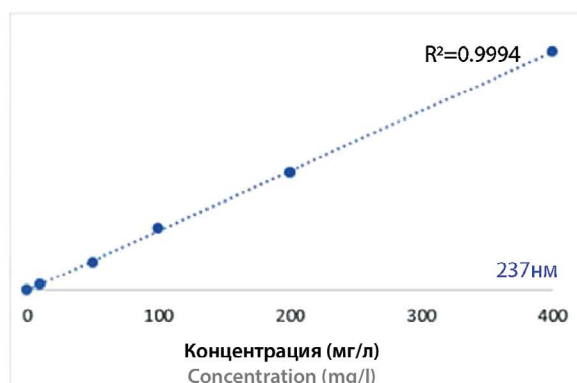
## РЕЗУЛЬТАТ

Линейность ВЭЖХ системы тестировали с помощью приготовленных аналитических стандартов ибупрофена и парацетамола в диапазоне 10–400 мг/л. Оптимальные длины волн для ибупрофена и парацетамола задавались на детекторе с диодной матрицей. На рисунке 1, А показана калибровочная кривая ибупрофена при длине волны 237 нм, на рисунке 1, Б показана калибровочная кривая парацетамола при длине волны 254 нм.

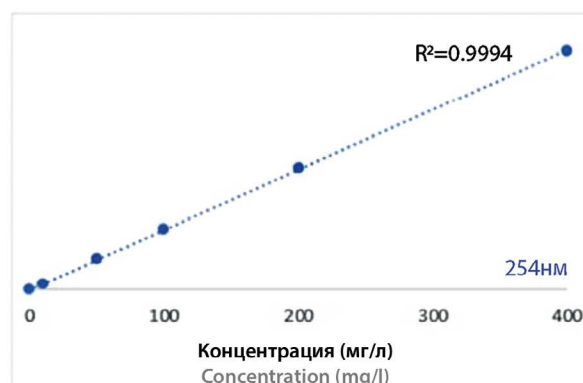
ВЭЖХ SCION продемонстрировала превосходную линейность в диапазоне концентраций 10–400 мг/л для обоих целевых соединений, каждое со значением  $R^2$  0,9994. В соответствии со стандартами калибровки был проанализирован образец, содержащий экстракты таблеток ибупрофена и парацетамола. На рисунке 2 показаны сложенные хроматограммы обоих целевых соединений при их конкретных длинах волн.

Ибупрофен имеет максимальное поглощение при длине волны 237 нм, а парацетамол – при 254 нм. Использование многоволновой способности детектора с диодной матрицей позволило обнаружить оба целевых соединения за одну инъекцию менее чем за 12 минут. Концентрацию обоих целевых соединений определяли по соответствующим калибровочным кривым. Количественные значения концентрации ибупрофена составили 34,11 мг/л, а парацетамола – 39,24 мг/л.

Для дальнейшей идентификации и уверенности в результатах спектры поглощения целевых соединений также сравнивали со спектральной библиотекой. На рисунке 3, А показано сравнение спектров поглощения образца ибупрофена со спектрами стандарта ибупрофена, а рисунке 3, Б показано сравнение спектров поглощения образца парацетамола и стандарта парацетамола.



А  
A



Б  
B

**Рисунок 1. Калибровочные кривые:**

А – калибровочная кривая ибупрофена при длине волны 237 нм; Б – калибровочная парацетамола при длине волны 254 нм

**Figure 1. Calibration curves:**

А – calibration curve of ibuprofen at 237nm; Б – calibration curve of paracetamol at 254nm

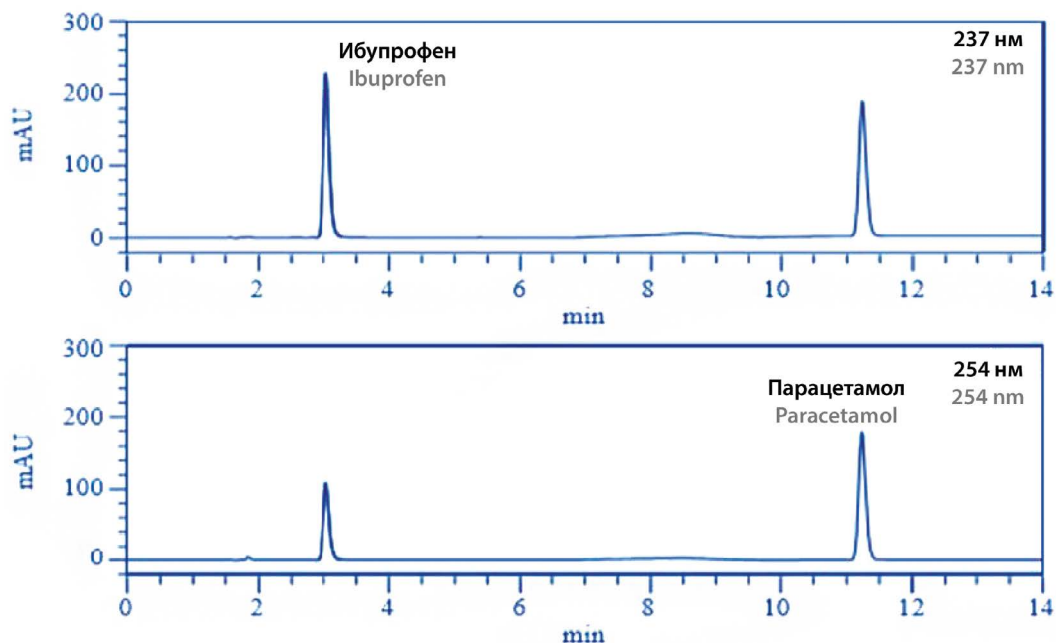


Рисунок 2. Суммарная хроматограмма целевых соединений

Figure 2. Stacked chromatogram of target compounds

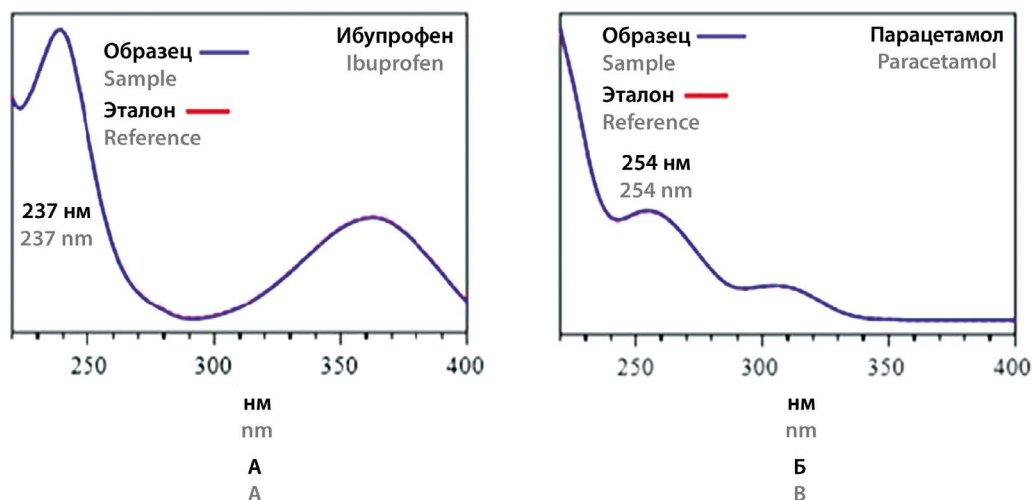


Рисунок 3. Сравнение спектров поглощения образцов:

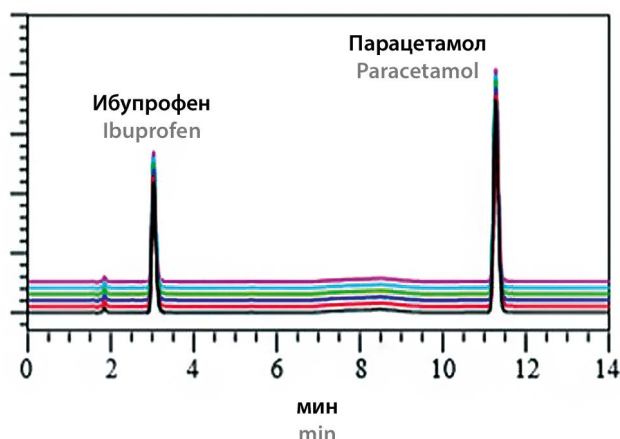
А – сравнение спектров поглощения ибупрофена; Б – сравнение спектров поглощения парацетамола

Figure 3. Comparison of absorption spectra of samples:

A – absorbance spectra comparison of Ibuprofen; B – absorbance spectra comparison of paracetamol

Программное обеспечение CompassCDS использовалось для сравнения полученных спектров с данными библиотек, в данном случае использовалась собственная справочная библиотека. На рисунках 3, А и Б показано наложение спектров поглощения, полученных при анализе образца и при анализе эталонного стандарта, в котором ибупрофен и парацетамол продемонстрировали 100 % совпадение, что под-

тверждает положительную идентификацию обоих целевых соединений (спектры образца наложены на спектр эталона, совпадение составляет 100 %, эталонные спектры не видны). Для гарантии точных и сходимых результатов были выполнены шесть последовательных вводов калибровочного стандарта 10 мг/л. На рисунке 4 показаны наложенные хроматограммы для ибупрофена и для парацетамола.



**Рисунок 4.** Наложение хроматограмм для стандартных образцов 10 мг/л

**Figure 4.** Overlay of 10mg/L analytical standard chromatograms

Наблюдалась превосходная воспроизводимость для стандартного образца с концентрацией 10 мг/л в течение шести последовательных инъекций; с RSD 0,27 % для ибупрофена при 237 нм и 0,18 % для пара-

цетамола при 254 нм. Время удерживания также было стабильным и воспроизводимым со значениями RSD 0,06 % и 0,04 % соответственно. Наблюдаемая превосходная воспроизводимость и линейность демонстрируют надежность системы ВЭЖХ SCION LC6000.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Компания SCION Instruments разработала быстрый и точный метод одновременной идентификации и количественного определения комбинированных препаратов с помощью ВЭЖХ-DAD. Этот метод имеет решающее значение для многих отраслей промышленности, включая фармацевтику и токсикологию. С помощью одной инъекции при использовании многоволновых возможностей диодного матричного детектора стало возможным четко разделить ибупрофен и парацетамол, два широко используемых безрецептурных препарата менее чем за 12 минут. Идентификация соединения дополнительно подтверждалась сравнением спектров поглощения с использованием CompassCDS. Превосходная линейность и повторяемость SCION HPLC-DAD были продемонстрированы низкими значениями RSD и высокими значениями  $R^2$ .

# LC 6000

## ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФ

- 
**Модульный хроматограф на базе 4-канального градиентного/изократического насоса**
- 
**4 детектора:**
  - рефрактометрический
  - УФ
  - диодно-матричный
  - флуоресцентный
- 
**Уникальный режим низкого давления для снижения пульсации жидкостей и улучшения точности и воспроизводимости анализа**
- 
**Максимально низкое перекрестное загрязнение образцов**
- 
**Термостат на 3 колонки**

## ГАЗОВАЯ И ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ ОТ ЕВРОПЕЙСКОГО ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Scion Instruments – компания, объединившая в себе технологии и опыт компаний Bruker и Varian

Компания «АВРОРА» -  
официальный представитель  
Scion Inst. в России и  
Республике Беларусь



Узнать больше