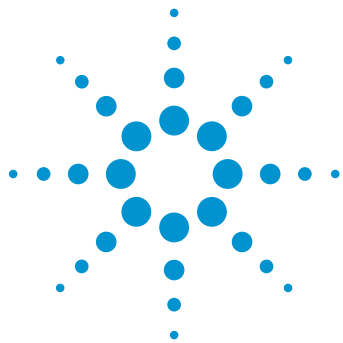




Перенос метода с системы ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity в систему ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity II

Подтверждение идентичности анализа
парацетамола и его примесей

Рекомендации по применению

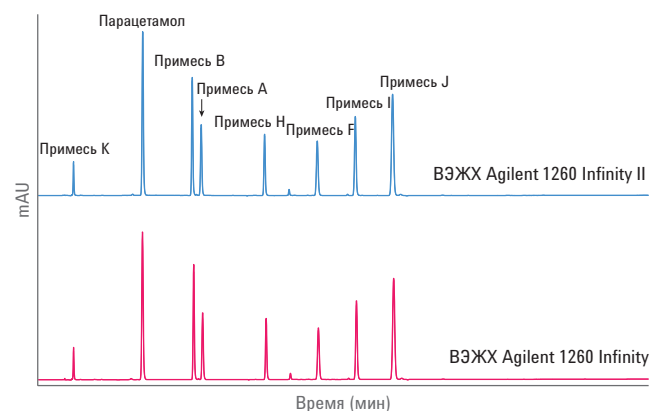
Низкомолекулярные лекарственные вещества

Автор

Соня Кригер (Sonja Krieger)
Agilent Technologies, Inc.
Вальдброн, Германия

Аннотация

Перенос методов между приборами, например в новые системы ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity II, — это важный вопрос для любых лабораторий. В настоящих рекомендациях по применению показан перенос метода анализа парацетамола и его примесей с системы ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity в систему ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity II и доказано получение идентичных результатов с точки зрения времен удерживания и разрешения.



Agilent Technologies

Введение

Перенос методов между приборами представляет собой важную проблему для лабораторий в разных отраслях промышленности¹. Эта процедура является обязательной для валидированных методов в фармацевтической промышленности, но она также важна для контроля качества в других отраслях. Одним из примеров переноса метода между приборами является перенос метода на новые приборы для ВЭЖХ, такие как системы ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity II. В настоящих рекомендациях по применению показан анализ парацетамола и его примесей с помощью системы ВЭЖХ 1260 Infinity и простой перенос этого метода в систему ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity II. Также продемонстрировано сокращение времени анализа за счет полного использования диапазона давления системы ВЭЖХ 1260 Infinity II.

Анализ примесей в лекарственных препаратах крайне важен в фармацевтической промышленности. В соответствии с рекомендациями Q3A (R2) Международной конференции по гармонизации необходимо сообщать о примесях с содержанием не менее 0,05% в новых лекарственных веществах и идентифицировать в них примеси с содержанием не ниже 0,1%². Парацетамол (4-ацетамидофенол) используется как болеутоляющее средство для облегчения боли и симптомов лихорадки, в том числе и в домашних условиях³. Он содержится во многих лекарственных препаратах против простуды и гриппа, а также в болеутоляющих средствах, отпускаемых по рецептам³. В отличие от ацетилсалициловой кислоты и ибупрофена парацетамол не обладает противовоспалительными свойствами³.

Экспериментальная часть

Оборудование

Система ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity II, состоящая из следующих модулей:

- четырехканальный насос Agilent 1260 Infinity II Quaternary Pump (G7111B);
- автосамплер Agilent 1260 Infinity II Multisampler (G7167A) с термостатом (опция № 100);
- термостат колонок 1260 Infinity II MCT (G7116A);
- диодно-матричный детектор Agilent 1260 Infinity II Diode Array Detector HS (G7117C), оснащенный оптической ячейкой Max-Light 10 мм (G4212-60008).

Система ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity, состоящая из следующих модулей:

- четырехканальный насос Agilent 1260 Infinity Quaternary Pump (G1311B);
- высокоэффективный автосамплер Agilent 1260 Infinity HiP (G1367E) с термостатом Agilent 1290 Infinity (G1330B);
- термостат колонок Agilent 1260 Infinity TCC (G1316A);
- диодно-матричный детектор Agilent 1260 Infinity Diode Array Detector (G4212B), оснащенный оптической ячейкой Max-Light 10 мм (G4212-60008).

Программное обеспечение

Agilent OpenLAB CDS версии 2.1

Колонка

Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 4,6 × 100 мм, 2,7 мкм (кат. № 695975-902T)

Реактивы

Все применяемые растворители имели класс чистоты «для ВЭЖХ». Ацетонитрил был приобретен у компании Merck (Дармштадт, Германия). Вода высшей степени очистки была получена в системе Milli-Q Integral, оборудованной мембранным картриджем с размером пор 0,22 мкм (Millipak, EMD Millipore, Биллерики, штат Массачусетс, США). Трифторуксусная кислота была приобретена в компании Sigma-Aldrich (Штайнхайм, Германия). Парацетамол, а также примесь В (N-(4-гидроксифенил)пропанамид), примесь F (4-нитрофенол), примесь Н (4-(ацетиламино)фенилацетат), примесь I (1-(2-гидроксифенил)этанол), примесь J (4-хлорацетанилид) и примесь К (4-аминофенол) получены из компании LGC Standards (Теддингтон, Великобритания). Примесь А (2-ацетамидофенол) получена из компании Sigma-Aldrich (Штайнхайм, Германия).

Проба

Смесь парацетамола и примесей А, В, F, H, I, J, K. Смесь парацетамола и примесей А, В, F, H, I, J, K приготавливалась в воде/ацетонитриле (95:5, об.:об.) с добавлением 0,1%-й трифторуксусной кислоты при концентрации 50 мкг/мл каждого компонента.

Методики

Таблица 1. Условия хроматографического разделения

Параметр	Значение
Колонка	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 4,6 × 100 мм, 2,7 мкм
Растворитель	А) Вода + 0,1% трифторуксусной кислоты В) Ацетонитрил + 0,09% трифторуксусной кислоты
Градиент	5% В через 0 минут, 5% В через 0,67 минуты, 70% В через 16 минут
Время элюирования	16 мин
Время промывки колонки после анализа	6,7 мин
Скорость потока	1,500 мл/мин
Температура	30 °С
Детектирование	270 нм/4 нм, опор. 395 нм/10 нм, 20 Гц
Объем ввода	10,0 мкл
Температура в автосамплере	6 °С

Таблица 2. Условия хроматографирования при повышенной скорости потока

Параметр	Значение
Колонка	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 4,6 × 100 мм, 2,7 мкм
Растворитель	А) Вода + 0,1% трифторуксусной кислоты В) Ацетонитрил + 0,09% трифторуксусной кислоты
Градиент	5% В через 0 минут, 5% В через 0,40 минуты, 70% В через 9,60 минуты
Время элюирования	9,60 мин
Время промывки колонки после анализа	4,00 мин
Скорость потока	2,500 мл/мин
Температура	30 °С
Детектирование	270 нм/4 нм, опор. 395 нм/10 нм, 40 Гц
Объем ввода	10,0 мкл
Температура в автосамплере	6 °С

Результаты и обсуждение

В настоящих рекомендациях по применению показан анализ парацетамола и его примесей на системе ВЭЖХ 1260 Infinity в условиях хроматографирования, описанных в табл. 1. Этот метод был перенесен на систему ВЭЖХ 1260 Infinity II для подтверждения полной воспроизводимости.

На рис. 1 и в табл. 3 показан анализ парацетамола и его примесей А, В, F, H, I, J, К, а также приведены соответствующие времена удерживания, площади пиков и разрешение на системе ВЭЖХ 1260 Infinity.

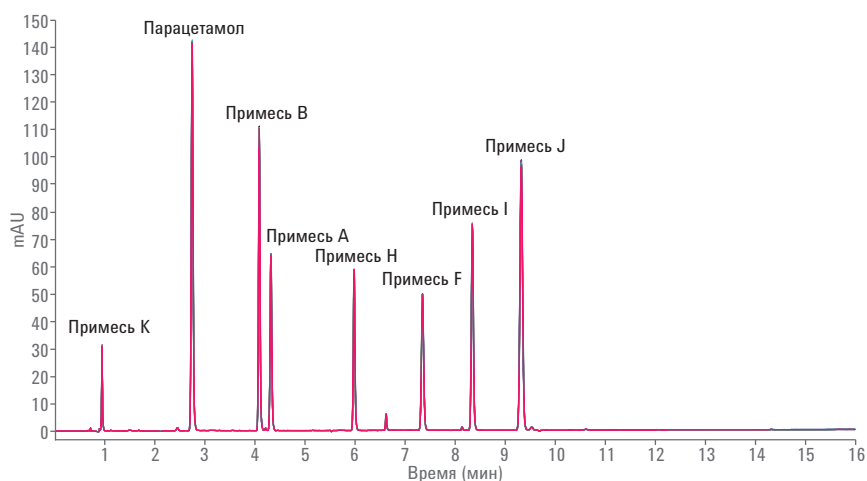


Рис. 1. Анализ парацетамола и его примесей на системе ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity; наложение 10 последовательных анализов

Таблица 3. Анализ парацетамола и его примесей на системе ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity; точность времени удерживания и площади пиков, определенная по 10 последовательным анализам

Соединение	ВУ (мин)	ОСО ВУ (%)	Площадь	ОСО площади (%)	Разрешение
Примесь К	0,93	0,04	41,4	0,72	—
Парацетамол	2,73	0,04	360,4	0,11	37,0
Примесь В	4,08	0,02	237,8	0,17	22,0
Примесь А	4,31	0,02	156,6	0,16	3,9
Примесь Н	5,98	0,02	136,2	0,24	26,9
Примесь F	7,34	0,02	157,2	0,09	19,1
Примесь I	8,34	0,02	216,0	0,26	12,6
Примесь J	9,32	0,02	372,4	0,53	11,1

Метод анализа парацетамола и его примесей был перенесен без каких-либо изменений на систему ВЭЖХ 1260 Infinity II. На рис. 2 и в табл. 4 показаны итоговые разделение, соответствующие времена удерживания и площади пиков, а также разрешение. По точности площади пиков система ВЭЖХ 1260 Infinity II даже превосходит систему ВЭЖХ 1260 Infinity.

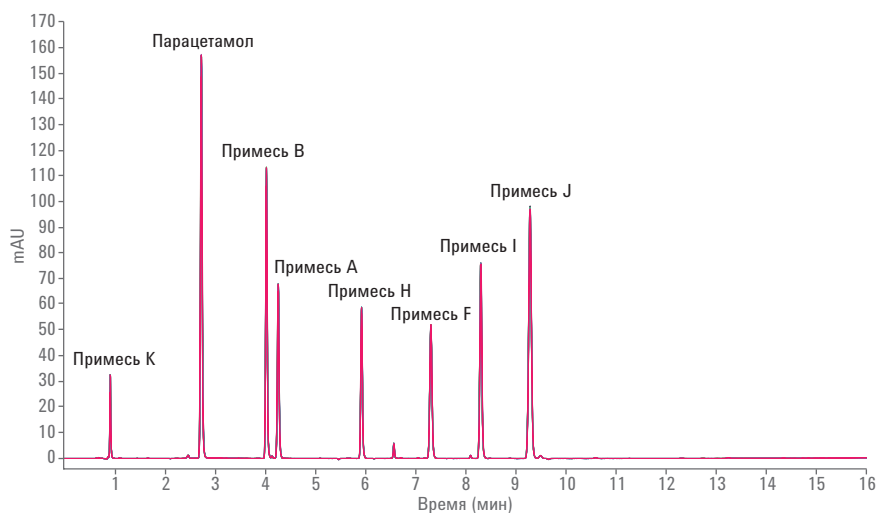


Рис. 2. Анализ парацетамола и его примесей на системе ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity II; наложение 10 последовательных анализов

Таблица 4. Анализ парацетамола и его примесей на системе ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity II; точность времени удерживания и площади пиков, определенная по 10 последовательным анализам

Соединение	ВУ (мин)	ОСО ВУ (%)	Площадь	ОСО площади (%)	Разрешение
Примесь К	0,93	0,04	43,3	0,50	—
Парацетамол	2,74	0,05	373,4	0,11	38,7
Примесь В	4,04	0,02	243,4	0,09	22,1
Примесь А	4,27	0,02	163,3	0,10	4,0
Примесь Н	5,93	0,02	138,2	0,08	26,8
Примесь F	7,32	0,01	165,6	0,08	19,1
Примесь I	8,31	0,02	220,6	0,07	12,5
Примесь J	9,29	0,01	375,3	0,38	11,0

На рис. 3 и в табл. 5 сравниваются времена удерживания парацетамола и его примесей, проанализированных на системах ВЭЖХ 1260 Infinity и ВЭЖХ 1260 Infinity II. Учитывая максимальное отклонение времен удерживания 1%, наблюдалась превосходная воспроизводимость между системами ВЭЖХ 1260 Infinity и ВЭЖХ 1260 Infinity II. Разрешение пиков, достигаемое на системе ВЭЖХ 1260 Infinity, получено и на системе ВЭЖХ 1260 Infinity II. Это доказывает возможность простого переноса метода с системы ВЭЖХ 1260 Infinity на систему ВЭЖХ 1260 Infinity II для анализа парацетамола и его примесей.

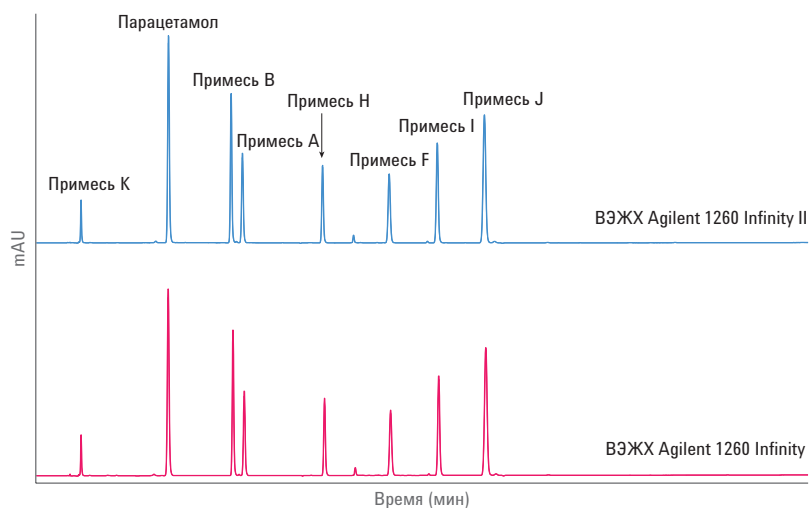


Рис. 3. Анализ парацетамола и его примесей на системах ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity и Agilent 1260 Infinity II

Таблица 5. Анализ парацетамола и его примесей на системах ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity и Agilent 1260 Infinity II; сравнение времен удерживания

Соединение	Отклонение ВУ (мин)	Отклонение ВУ (%)
Примесь К	0,00	–0,2
Парацетамол	0,01	0,3
Примесь В	–0,04	–0,9
Примесь А	–0,04	–0,9
Примесь Н	–0,04	–0,7
Примесь F	–0,03	–0,4
Примесь I	–0,03	–0,4
Примесь J	–0,03	–0,3

В целях данных рекомендаций по применению управление приборами ВЭЖХ 1260 Infinity и ВЭЖХ 1260 Infinity II осуществлялось с помощью программного обеспечения Agilent OpenLAB CDS версии 2.1. Программное обеспечение OpenLAB CDS версии 2.1 представляет собой единый программный комплекс для жидкостной и газовой хроматографии и масс-спектрометрии. Он обеспечивает простой пользовательский интерфейс и настраиваемую интерактивную отчетность с созданием шаблонов посредством операции перетаскивания. На рис. 4 показан анализ данных в ПО OpenLAB CDS версии 2.1. Компоновка экрана анализа данных настраивается пользователем и позволяет, например, одновременно отображать выбранные хроматограммы, инструмент визуализации Peak Explorer, результаты введения и данные для выбранного пика.

Колонки и расходные материалы Agilent InfinityLab прекрасно подходят для использования вместе с системой ВЭЖХ 1260 Infinity II, обеспечивая максимальную производительность и эффективность рабочих процессов ЖХ. Фитинги Agilent InfinityLab Quick Connect (кат. № 5067-6166, с капилляром 0,17 × 105 мм) и фитинги Quick Turn (кат. № 5067-5966) позволяют устанавливать колонку легко и быстро, не используя никаких инструментов. Благодаря этому соединение колонок у любого пользователя всегда получается безупречным. Установка ВЭЖХ 1260 Infinity II на стойку Agilent InfinityLab Flex Bench (кат. № 5043-1252) позволяет эффективно использовать рабочее пространство лаборатории и иметь удобный доступ к прибору.

Колонки Agilent InfinityLab Poroshell в сочетании с диапазоном давления 600 бар системы ВЭЖХ 1260 Infinity II обеспечивают анализ в режиме УВЭЖХ, позволяя экономить время и растворитель при поддержании или увеличении разрешения пиков. При заказе системы ВЭЖХ 1260 Infinity II пользователь может выбрать различные колонки InfinityLab Poroshell, которые могут поставляться в комплекте с системой, например колонку Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 4,6 × 100 мм, 2,7 мкм (кат. № 695975-902T).

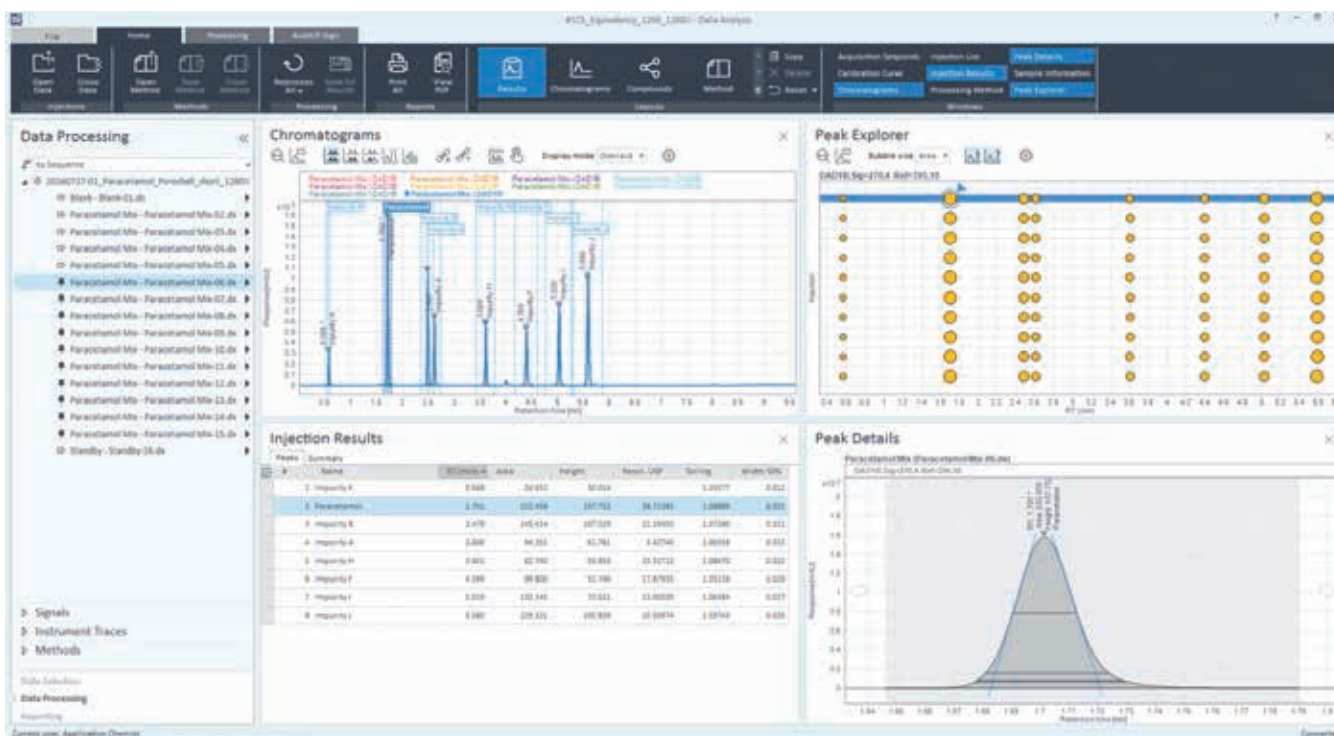


Рис. 4. Фрагмент анализа данных в ПО Agilent OpenLAB CDS версии 2.1

Чтобы в полной мере реализовать возможности высокого давления системы ВЭЖХ 1260 Infinity II, колонку InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 4,6 × 100 мм, 2,7 мкм, можно использовать при относительно высокой скорости потока — 2,5 мл/мин (условия хроматографирования, описанные в табл. 2). На рис. 5 и в табл. 6 показаны результаты анализа парацетамола и его примесей, соответствующая точность времен удерживания и площади пиков, а также разрешение. Повышение скорости потока сокращает время анализа на 40% при незначительной потере в разрешении.

Выводы

Перенос метода анализа парацетамола и его примесей с системы ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity на систему ВЭЖХ 1260 Infinity II продемонстрировал максимальное отклонение времен удерживания менее 1% при достижении такого же разрешения пиков. Это подтверждает, что система ВЭЖХ 1260 Infinity II идентична системе ВЭЖХ 1260 Infinity с точки зрения анализа парацетамола и его примесей, и показывает возможность беспрепятственного переноса метода. Кроме того, увеличение скорости потока и использование в полной мере диапазона давления системы ВЭЖХ 1260 Infinity II позволяет сократить время анализа на 40%.

Литература

1. Agilent 1290 Infinity with ISET, *Agilent Technologies User Manual*, part number G4220-90314, 2015 [Agilent 1290 Infinity с интеллектуальной системой эмуляции методик, руководство пользователя Agilent Technologies, каталожный номер G4220-90314, 2015 г.].
2. Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации фармацевтических препаратов для медицинского применения, Гармонизированные трехсторонние рекомендации МКГ, Примеси в новых лекарственных веществах (Q3A(R2)), 25 октября 2006 г.
http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3A_R2/Step4/Q3A_R2_Guideline.pdf (по состоянию на 28 июля 2016 г.)

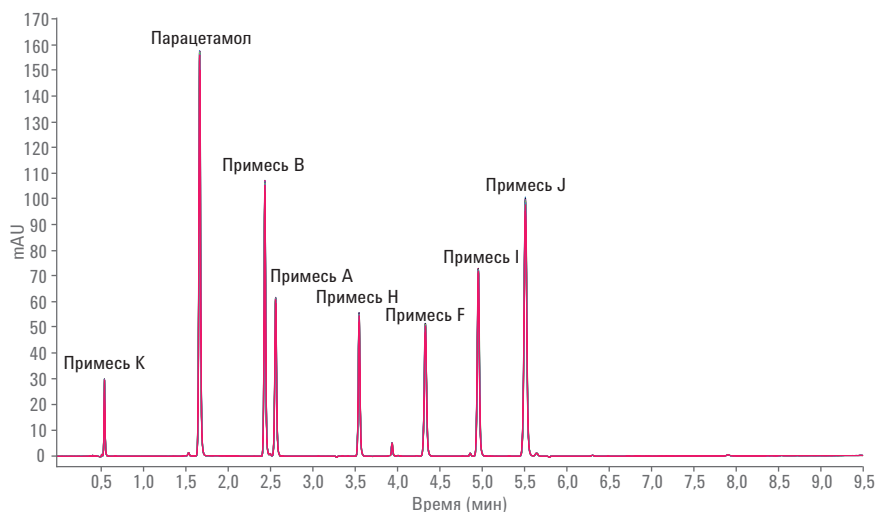


Рис. 5. Анализ парацетамола и его примесей при повышенной скорости потока в системе ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity II; наложение 10 последовательных анализов

Таблица 6. Анализ парацетамола и его примесей при повышенной скорости потока на системе ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity II; точность времен удерживания и площади пиков, определенная по 10 последовательным анализам

Соединение	ВУ (мин)	ОСО ВУ (%)	Площадь	ОСО площади (%)	Разрешение
Примесь К	0,57	0,03	24,6	0,29	—
Парацетамол	1,70	0,03	232,6	0,07	38,5
Примесь В	2,48	0,01	145,5	0,08	21,0
Примесь А	2,61	0,02	94,4	0,07	3,4
Примесь Н	3,60	0,01	82,8	0,09	25,3
Примесь F	4,39	0,02	99,8	0,09	17,7
Примесь I	5,02	0,02	132,2	0,07	12,9
Примесь J	5,58	0,02	228,3	0,34	10,4

3. Bosch, *et al.* Determination of paracetamol: Historical evolution, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2006**, 42, 291–321.

www.agilent.com/chem

Только для исследовательских целей. Не для использования в диагностических процедурах.

Информация может быть изменена без предупреждения.

© Agilent Technologies, Inc., 2016
Опубликовано в США 1 ноября 2016 г.
5991-7514RU



Agilent Technologies