

В МГУ ОТКРЫЛАСЬ ПАРТНЕРСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ AGILENT TECHNOLOGIES



03 Октября 2012, Москва – В АНАЛИТИЧЕСКОМ ЦЕНТРЕ ХИМИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА МОСКОВСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА (МГУ) ТОРЖЕСТВЕННО ОТКРЫЛАСЬ ПАРТНЕРСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ AGILENT PARTNERLAB. ЛАБОРАТОРИЯ СОЗДАНА В РАМКАХ СОТРУДНИЧЕСТВА МЕЖДУ МГУ И КОМПАНИЕЙ AGILENT TECHNOLOGIES, МИРОВОГО ЛИДЕРА В ОБЛАСТИ КОНТРОЛЬНО-ИЗМЕРИТЕЛЬНЫХ РЕШЕНИЙ.

Технологической базой лаборатории стало новейшее оборудование компании **Agilent Technologies**. В частности, Agilent Partner Lab располагает газовыми и жидкостными хроматографами, масс-спектрометрами с тройным квадруполом, оптико-эмиссионными и ИК-Фурье спектрометрами и другими современными приборами для химического анализа и контроля объектов окружающей среды, сырья и промышленной продукции.

Отвечая на вопросы сотрудников и студентов университета, декан химического факультета МГУ академик **В.В. Лунин** подчеркнул, что Agilent Partner Lab станет местом пересечения высоких технологий и науки, объединив научный потенциал ведущего вуза страны и самые передовые технологические решения компании Agilent Technologies.

Рон Нерсесиан, исполнительный вице-президент компании Agilent Technologies также отметил, что лаборатория станет хорошей площадкой для обмена опытом, проведения практических исследований и обучения как сотрудников МГУ, так и клиентов компании Agilent современным аналитическим методам «Компания Agilent Technologies активно сотрудничает с научными институтами по всему миру. Теперь такая практика будет развиваться и в России. Мы искренне рады нашему сотрудничеству с МГУ — ведущим научным центром страны», — отметил он.

В мероприятии приняли участие представители компании Agilent Technologies, сотрудники и студенты МГУ, независимые эксперты и представители СМИ. В рамках мероприятия по отделениям лаборатории была проведена экскурсия, во время которой сотрудники продемонстрировали установленное оборудование, а также рассказали о будущих исследованиях.



«Agilent Technologies» – мировой лидер в разработке и производстве контрольно-измерительных решений в сфере телекоммуникаций, электроники, биотехнологий и химического анализа. Компания Agilent Technologies была образована в 1999 г. В состав компании Agilent Technologies вошли наиболее наукоемкие и высокотехнологичные направления бизнеса: подразделения контрольно-измерительного оборудования, медицинского оборудования, оборудования для химического анализа и электронных компонентов компании Hewlett-Packard. В России Agilent Technologies состоит из Подразделения контрольно-измерительного оборудования и Подразделения оборудования для химического анализа. Продукция компании представлена на российском рынке более 35 лет. Более подробную информацию о компании Вы можете найти на сайте компании:

www.agilent.com

РАЗРАБОТКА, ВАЛИДАЦИЯ И СРАВНЕНИЕ ВЭЖХ МЕТОДА ДЛЯ АНАЛИЗА ПАРАЦЕТАМОЛА И СОПУТСТВУЮЩИХ ПРИМЕСЕЙ В СООТВЕТСТВИИ С ТРЕБОВАНИЯМИ ЕВРОПЕЙСКОЙ ФАРМАКОПЕИ (EP) И ФАРМАКОПЕИ США (USP) ПРИ ПОМОЩИ ЖХ СИСТЕМЫ AGILENT 1120 COMPACT И ЖХ СИСТЕМЫ AGILENT СЕРИИ 1200

■ **Детлеф Вильгельм**, компания ANATOX GmbH & Co, г. Фюрстенвальде, Германия

Введение

К аналитическим приборам для проведения типовых анализов проб при помощи стандартизированных методов ЖХ, особенно при проведении анализов, связанных с контролем качества, предъявляется ряд требований. Наиболее важным является высокая надежность, легкость применения и оптимальная стоимость эксплуатации.

В данной статье рассматривается применение хроматографической системы Agilent 1120 Compact в сопоставлении со стандартной ЖХ системой Agilent 1200. Система Agilent 1120 Compact представляет собой высокоточное и надежное средство для стандартной методики ЖХ, ее можно эффективно использовать в обычной практике для количественного определения фармацевтических препаратов, например, парацетамола и сопутствующих примесей.

В соответствии с требованиями Европейской фармакопеи (EP) примеси парацетамола A, B, F, H, I, J, и K подверглись анализу на обеих ЖХ системах, при этом контролировалась пригодность системы и проводились испытания эксплуатационных характеристик.

В данной статье приводится сравнение результатов разработки точного и воспроизводимого метода для анализа парацетамола и сопутствующих примесей в соответствии с требованиями Европейской фармакопеи (EP) и фармакопеи США (USP) 1, с применением ЖХ системы Agilent 1120 Compact и ЖХ системы серии 1200. Эксперименты включают в себя определение точности измерений площади и времени удерживания, а также хроматографических параметров, таких как разрешение и соотношения «сигнал/шум». Подходящая для решения этих задач колонка Agilent ZORBAX StableBond RP8 показывает хорошую селективность без расширения полосы и искажения пиков.

Результаты данных экспериментов подтверждают, что ЖХ система Agilent 1120 Compact является надежным инструментом для проведения стандартных испытаний, обеспечивающим соответствие требованиям ЕС и США и воспроизводимые результаты, сопоставимые с результатами, получаемыми при использовании стандартной ЖХ системы Agilent серии 1200.



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование

Были использованы ЖХ система Agilent 1120 Compact и стандартная ЖХ система серии Agilent 1200 со следующими конфигурациями:

Конфигурация системы 1120 Compact	Конфигурация системы серии 1200
Градиентный насос и вакуумный дегазатор	Насос четырехканальный и вакуумный дегазатор
Автосамплер	Стандартный автосамплер
Термостат колонок	Термостат колонок
Детектор с переменной длиной волны	Диодно-матричный детектор
ПО: EZChrom Elite Compact 3.3	ПО: ChemStation B.04.01

Подготовка образцов

Эталонный раствор готовился в соответствии с требованиями EP. 5 мг парацетамола и 5 мг каждой из примесей растворяли в метаноле и разводили до 20 мл тем же растворителем. 1 мл раствора был разведен до 250 мл подвижной фазой. Анализируемыми веществами были парацетамол и примеси K, A, B, H, I, J, и F.

Хроматографические условия

Колонка	Agilent ZORBAX StableBond-C8, 4,6 x 250 мм, 5 мкм
Подвижная фаза	Смесь 375 мл раствора Na ₂ HPO ₄ (17,9 г/л), 375 мл однозамещенного фосфата натрия (7,8 г/л), и 250 мл метанола, содержащего 6 мл раствора гидрокси тетрабулламмония (400 г/л) в метаноле
Настройки насоса	Изократический (в соответствии с правилами EP)
Время анализа	45 мин.
Расход фазы	1,5 мл/мин., изократический
Объем инъектирования	20 мкл
Температура колонки	35 °C
Детектор	
ЖХ система 1120	14 мкл
Система серии 1200	13 мкл
Ширина пика	0,1 мин. (5 Гц)
Длина волны	245 нм

Испытания пригодности системы и эксплуатационных характеристик

Правила EP в отношении парацетамола требуют испытаний пригодности системы с эталонным раствором (см. выше раздел «Подготовка образцов»). Испытания включают в себя следующие параметры:

Разрешение	мин. 4,0 между пиками для примеси К и для парацетамола
Отношение «сигнал/шум»	мин. 50 для пиков, вызванных примесью J
Относительное удерживание (парацетамол)	Примесь К = 0,8
	Примесь F = 3
	Примесь J = 7

В фармакопее США (USP) отсутствуют особые требования к парацетамолу. Однако, в соответствии с официальной публикацией Американской патентной классификации (USPC Official) 8/1/08, Глава «Общие требования» (General Chapter) <621> (Хроматография. Пригодность системы, стр. 28), при отсутствии особых требований в монографиях, данные пяти воспроизводимых вколов должны иметь относительное стандартное отклонение менее 2% для каждого расчетного параметра.

Исходя из этих вышеупомянутых требований, а также с целью проверки и сопоставления хроматографических показателей обеих ЖХ систем, проводились испытания следующих параметров, и были соблюдены предельные параметры, указанные ниже:

- Погрешность по площади должна быть <2% относительного стандартного отклонения (RSD)
- Погрешность по времени удерживания должна быть < 0,5% RSD
- Разрешение должно быть > 4 для примеси К и парацетамола
- Отношение «сигнал/шум» должно быть > 50 для примеси J

В соответствии с этими предельными значениями для проведения анализов были приготовлены образцы, указанные в таблице 1, и выполнен их анализ.

Таблица 1
Настройки для испытаний.

Образец	Назначение	Количество анализов
Контрольный раствор	Проверка исходной стабильности и выявление артефактов	2
Контрольный образец	Проверка чувствительности и разрешения для эталонного раствора	6
Образец для проверки пригодности	Проверка точности площадей и удерживания	10

Результаты и обсуждение

На рисунке 1 изображена хроматограмма, полученная при помощи системы серии 1200 и программы ChemStation, а на рисунке 2 – хроматограмма, полученная при помощи системы ЖХ 1120 Compact и программы EZChrom Elite Compact. Данные обеих хроматограмм, приведенные в таблицах 2 и 3, очень близки друг к другу.

Как видно на рисунках 1, 2 и 3, показатели разрешения и относительного удерживания соответствуют требованиям EP, как для парацетамола, так и для примеси F.

Результаты контрольного образца, приведенные в таблице 2, соответствуют всем критериям. Чувствительность системы была достаточной для определения всех пиков, разрешение было достигнуто для всех значимых соединений, входящих в состав смеси.

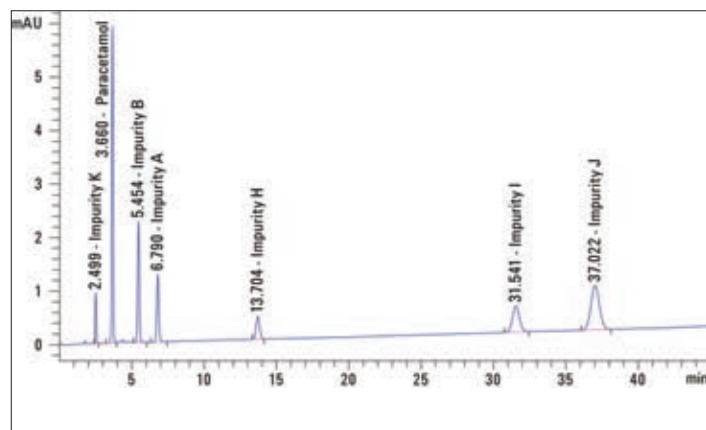


Рисунок 1
Пример хроматограммы парацетамола и примесей, полученной при помощи системы Agilent 1200.

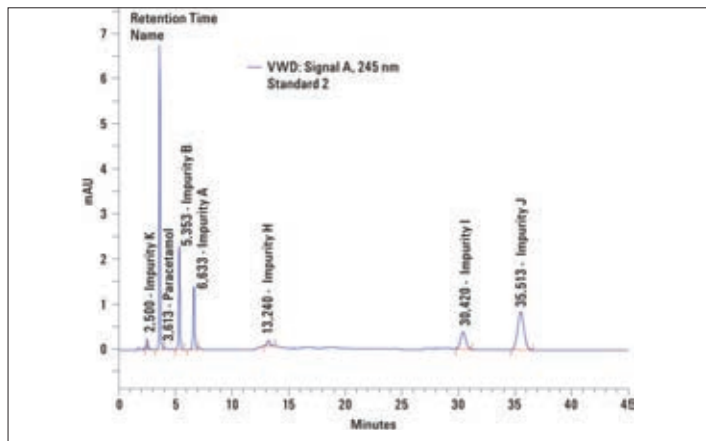


Рисунок 2
Пример хроматограммы парацетамола и примесей, полученной при помощи ЖХ системы Agilent 1120 Compact.

Minutes - минуты
mAU= единица измерения абсорбции
Impurity K = примесь К
Paracetamol = парацетамол
Impurity B = примесь В
Impurity A = примесь А
Impurity H = примесь Н
Impurity I = примесь I
Impurity J = примесь J
VWD: Signal A, 245 nm = детектор с переменной длиной волны: сигнал А, 245 нм
Standard 2 = стандарт 2
Retention Time = время удерживания
Name = наименование

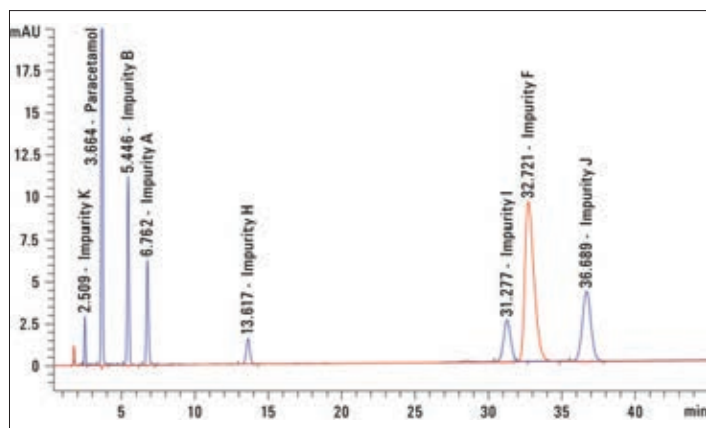


Рисунок 3
Хроматограмма для всех значимых примесей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ЖХ система Agilent 1120 Compact предназначена для пользователей, которым необходима высокая надежность, легкость применения и низкая стоимость эксплуатации при использовании стандартной ЖХ методологии. Сравнение со стандартной ЖХ системой, серия 1200 показывает очень похожие результаты для решения поставленных задач.

Для подтверждения точных результатов при использовании системы, оптимизированной с учетом суточной производительности и обеспечения выполнения требований нормативной документации, эксперименты, описанные в данной статье, включали в себя определение точности измерений площади и времени удерживания, а также хроматографические параметры, например, разрешение и отношение «сигнал/шум».

Как видно из таблицы 2, разрешение всех пиков оказалось больше 4,0; при отношении «сигнал/шум» более 60 (требуется > 50) при работе с обеими системами для соответствующего соединения. Расчетные отношения «сигнал/шум» подтверждают хорошую чувствительность системы и показывают, что прибор можно использовать в соответствии с требованиями, предъявляемыми к контролю качества.

Результаты, приведенные в таблице 3, показывают, что все критерии точности определения (площади и времени удерживания) выполняются. Все критерии, связанные с требованиями EP и USP, выполняются, и определение парацетамола и его примесей может производиться при помощи надежной ЖХ системы Agilent 1120 Compact.

Все результаты показывают возможность применения ЖХ системы 1120 Compact для контроля качества лекарственных средств для целей, обеспечивающих простоту использования и низкую стоимость эксплуатации. В дополнение к расширенным функциям системы, новая версия программы EZChrom Elite Compact обеспечивает полное управление ЖХ системой Agilent 1120 Compact с широким спектром функций для анализа данных и составления отчетов.

Высокие эксплуатационные характеристики нового насоса отлично подтверждаются хорошими результатами, в особенности точностью времени удерживания. Также высокие значения отношения «сигнал/шум» (> 50 для соответствующих компонентов с эталонным образцом) являются результатом низкой пульсации насоса. Высокая точность инжектора подтверждается очень схожими результатами, в части точности площади по сравнению со стандартной ЖХ системой.

Результаты симметрии пиков показывают хорошую селективность и эксплуатационные характеристики колонок Agilent в ЖХ системах, без расширения полосы или искажения пиков.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Европейская фармакопея 5.0, 2184–5.

Компания Agilent Technologies совместно с Аналитическим центром Химического факультета МГУ им. Ломоносова организует курсы по обучению теоретическим основам и практическому применению современных методов химического анализа на базе приборов Agilent Technologies. Образовательные программы включают в себя обучение современным хроматографическим, масс-спектрометрическим и элементным методам анализа (с выдачей сертификата государственного образца). Дополнительную информацию можно получить по телефонам: 8(945) 939-35-14, 8(495) 939-46-87

Таблица 2
Результаты для контрольного образца: время удерживания и разрешение.

Соединение	Время удерживания (минут)		Разрешение	
	ЖХ система Agilent 1200	ЖХ система Agilent 1120 Compact	ЖХ система Agilent 1200	ЖХ система Agilent 1120 Compact
Примесь К	2,498	2,507	–	–
Парацетамол	3,659	3,620	7,19	7,03
Примесь В	5,454	5,353	9,22	9,04
Примесь А	6,792	6,633	5,75	5,51
Примесь Н	13,716	13,240	19,52	18,35
Примесь I	31,562	30,387	26,25	24,89
Примесь J	37,066	35,480	5,47	5,03

Таблица 3
Образец для определения пригодности системы: показатели точности времени удерживания и площади.

Соединение	ЖХ система Agilent 1200			ЖХ система Agilent 1120 Compact		
	Время удерживания (мин.)	Сред. некв. отклонение времени удерживания n = 25	Сред. некв. отклонение площади n = 10	Время удерживания (мин.)	Сред. некв. отклонение времени удерживания n = 25	Сред. некв. отклонение площади n = 10
Примесь К	2.498	0.127	0.656	2.507	0.177	0.690
Парацетамол	3.659	0.048	0.545	3.620	0.111	0.342
Примесь В	5.454	0.061	0.263	5.353	0.135	0.352
Примесь А	6.792	0.154	0.215	6.633	0.206	0.348
Примесь Н	13.716	0.22	0.831	13.240	0.311	0.636
Примесь I	31.562	0.278	0.599	30.387	0.371	0.681
Примесь J	37.066	0.324	0.404	35.480	0.386	0.258

Не только для примеси К и парацетамола, но и для всех прочих значимых пиков разрешение превысило 4, что свидетельствует об очень хорошей селективности материала ZORBAX StableBond RP8 и хороших рабочих характеристиках системы. Данные по симметрии пиков (не показано) для всех пиков варьируются от 0,88 до 1,02.

Критерий отношения «сигнал/шум» для примеси J был соблюден в обеих системах. Для системы Agilent 1200 среднее значение оказалось 61,4, а для ЖХ системы Agilent 1120 Compact – 63,9 при работе с эталонным раствором.

В таблице 3 приведены результаты по точности измерений площади и времени удерживания для основного соединения и примесей, содержащихся в образце для определения пригодности системы. Надежность и точность ЖХ систем Agilent 1200 и Agilent 1120 Compact были подтверждены. Для всех компонентов критерии точности времени удерживания и площади были выполнены, так что обе системы можно использовать для методов контроля качества.

Сравнение результатов по образцу для определения пригодности показало, что точность по времени удерживания была примерно одинаковой. Наблюдались лишь незначительные отклонения. Та же ситуация наблюдалась в отношении точности площади. Обе системы имеют одинаковые показатели инжектора, насоса и детектора, вне зависимости от используемого программного обеспечения.