

NOTA APLIKACYJNA – JAGIELLOŃSKIE CENTRUM INNOWACJI

ROZDZIAŁ SUBSTANCJI CHIRALNYCH ZA POMOCĄ SFC NA PRZYKŁADZIE IBUPROFENU

dr Paweł Hrynczyszyn*, Marzena Gizler*, Adam Wąchała*

*Laboratorium Chromatografii i Spektrometrii Mas, Jagiellońskie Centrum Innowacji, ul. Bobrzyńskiego 14, 30-348 Kraków

ABSTRAKT

Rozdzielanie chiralnych izomerów stało się niezwykle ważną analizą, zwłaszcza w świecie farmacji. Najczęściej tylko jeden z enancjomerów wykazuje działanie farmakologiczne, podczas gdy drugi może wykazywać działanie szkodliwe. Chromatografia w stanie nadkrytycznym jest ważnym narzędziem analitycznym pozwalającym na separację dwóch chiralnych izomerów oraz sprawdzenie czystości chiralnej wraz z ich oczyszczeniem. Wykorzystanie SFC pozwala na separację enancjomerów farmaceutyków np. ibuprofenu w znacznie krótszym czasie, niż chromatografia cieczowa, często uzyskując lepszą separację względem HPLC, a także rozdział związków, których nie można rozdzielić przy użyciu GC. Dwutlenek węgla stosowany jako faza ruchoma w tej technice jest stosunkowo tani, a ilości wykorzystywanych toksycznych rozpuszczalników są znacząco mniejsze w porównaniu do HPLC.

WSTĘP

Wiele substancji wykorzystywanych jako leki wykazuje czynność optyczną, czyli posiada stereoizomery. Niektóre leki można przyjmować w dowolnej postaci, czy to czystego izomeru czy jako mieszaninę racemiczną (np. ibuprofen), ponieważ różne enancjomery nie wykazują negatywnych skutków po przyjęciu ich przez pacjenta. Niestety, czasami zdarza się tak, iż jeden izomer działa szkodliwie na pewien aspekt zdrowia człowieka. Takim przykładem może być talidomid, w przypadku którego wykazano, że jeden izomer nie powoduje negatywnych skutków ubocznych, drugi natomiast powoduje ciężkie uszkodzenia płodu, gdy jest przyjmowany przez kobiety w ciąży. Ironią natomiast jest to, iż talidomid był przepisywany kobietom w celu złagodzenia nudności związanych z ciążą. Wobec powyższego koniecznym jest analizowanie produktów leczniczych na każdym etapie produkcji, a w przypadku analiz chiralnych dobrym wyborem jest chromatografia w stanie nadkrytycznym.

MATERIAŁY I METODY

System analityczny

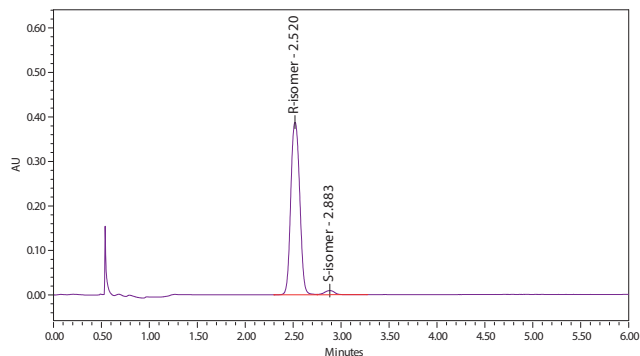
Chromatograf analityczny w fazie nadkrytycznej UPC (Waters) z detektorem PDA
Kolumna: Chiralpak IF-3; 150 x 3,0 mm; 3 µm (Daicel)

Warunki chromatograficzne

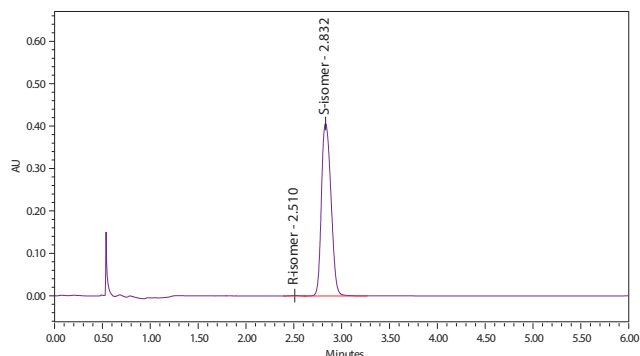
ABRP: 2000 psi
Termostat kolumny: 38°C
Przepływ: 1,5 ml/min
Faza: dwutlenek węgla w fazie nadkrytycznej
Modyfikator: Metanol z kwasem trifluoroctowym (MeOH + 0,1% TFA)
Elucja izokratyczna 93%: 7% (CO₂: modyfikator)

WYNIKI I WNIOSKI

Metodę opracowano i zoptymalizowano wykorzystując wzorce substancji chiralnych: R-ibuprofenu oraz S-ibuprofenu. Separację enancjomerów za pomocą chromatografii nadkrytycznej przedstawiono na chromatogramach poniżej. Czas retencji obu enancjomerów wynosi poniżej 3 minut.

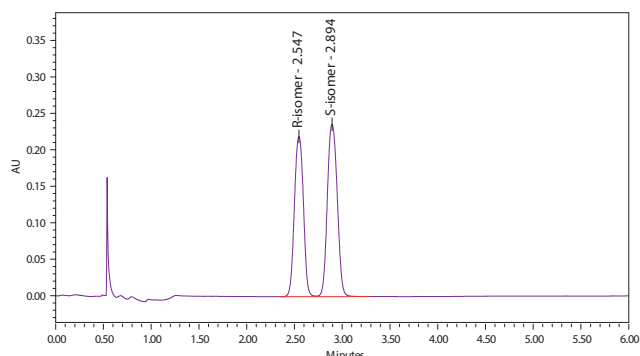


Rysunek 1. Chromatogram wzorca *R*-ibuprofenu



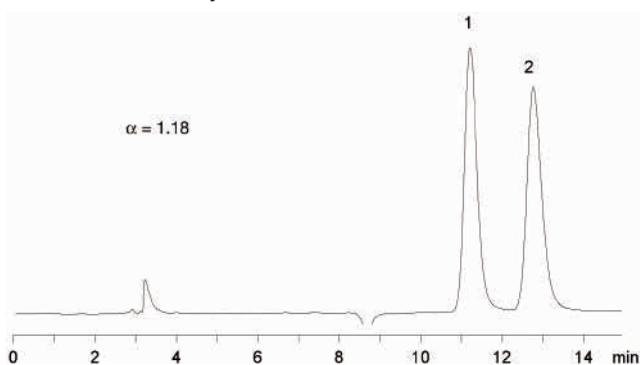
Rysunek 2. Chromatogram wzorca *S*-ibuprofenu

Wykorzystując opracowaną metodę dokonano rozdzielenia substancji czynnej z produktu leczniczego dostępnego na rynku.



Rysunek 3. Chromatogram badanej próbki - produkt dostępny na rynku

Dla porównania – przykładowy chromatogram mieszaniny racemicznej analizowanej przy użyciu HPLC w normalnym układzie faz¹:



Rysunek 4. Rozdział enancjomerów ibuprofenu metodą HPLC

Chromatografia w stanie nadkrytycznym pozwala uzyskać rozdzielenie w czasach o wiele krótszych niż w chromatografii cieczowej. Umożliwia to znaczące skrócenie procesu oznaczania oraz oczyszczania substancji. Specyfika tej techniki umożliwia uzyskanie rozdzielenia substancji, dla których w chromatografii cieczowej nie udało się uzyskać satysfakcjonującego rozdzielenia. Ponieważ główną fazą jest dwutlenek węgla wpisuje się ona w nurt green chemisty pozwalając w znaczący sposób ograniczyć ilość zużywanych kosztownych odczynników oraz produkowanych odpadów.

BIBLIOGRAFIA

1. http://www.chem.pg.gda.pl/agrobiokap/images/stories/Promocja/zielona_chromatografia_warszawa-2011.pdf
2. https://matheo.uliege.be/bitstream/2268.2/3045/3/Master%20thesis_Final.pdf
3. <http://www.phenomenex.com/Application/Detail/20274>

KONTAKT

dr Paweł Hrynczyszyn
Kierownik Laboratorium Chromatografii
i Spektrometrii Mas

K: +48 571 336 008
E: pawel.hrynczyszyn@jci.pl

Jagiellońskie Centrum Innowacji Sp. z o.o.
ul. Bobrzyńskiego 14, 30-348 Kraków

Projekt został zrealizowany w ramach programu Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący (KNOW)



Treść niniejszej noty jest rozpowszechniana na licencji Creative Commons Użycie Niekommercyjne – Bez Utworów Zależnych 4.0 (CC BY-NC-ND 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode.pl>

Listopad 2018 r.

1. <http://www.phenomenex.com/Application/Detail/20274>