



Аналитические возможности жидкостного хроматографа Маэстро ВЭЖХ с детектором на диодной матрице на примере определения примесей в лекарственном препарате рибавирин согласно ФС.2.1.0031.15

*Яшин А. Я. к. х. н., ведущий инженер отдела исследований и разработок, ООО Интерлаб, Россия, Москва*

#### Ключевые слова

Жидкостная хроматография, рибавирин, примеси, лекарственный препарат, детектор на диодной матрице

#### Резюме

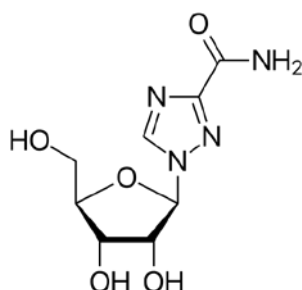
Показаны аналитические возможности МаэстроВЭЖХ на примере определения родственных примесей в рибавирине. Определено содержание примесей в лекарственном препарате рибавирин согласно ФС.2.1.0031.15

## Введение

Рибавирин - синтетический аналог нуклеозидов с выраженным противовирусным действием. Обладает широким спектром активности против различных ДНК и РНК вирусов. Препарат используется для лечения тяжёлой инфекции, вызванной респираторно-синцитиальным вирусом, вирусным гепатитом С, а также других вирусных инфекций. Рибавирин активен в форме метаболита, который имеет структуру, сходную с пуриновым нуклеотидом. Показана эффективность рибавирина против вирусов гриппа и многих вирусных геморрагических лихорадок. В США и Великобритании рибавирин назначают орально для лечения гепатита С в сочетании с пегилированными интерферонами. Рибавирин в сочетании с пегинтерферонами признан современным стандартом терапии хронического гепатита С в развитых странах.

В Государственной Фармакопее РФ XIII издания имеется фармакопейная статья ФС.2.1.0031.15, в которой прописано определение родственных примесей в лекарственном препарате рибавирин методом ВЭЖХ с УФ детектированием.

В этой работе предлагается использовать жидкостный хроматограф МаэстроВЭЖХ с детектором на диодной матрице.



Рибавирин

## Экспериментальная часть

*Для анализа использовали чистые вещества фирмы Fluka:*

Вода бидистиллированная;

Кислота трифторуксусная, ч.д.а.

Метанол для ВЭЖХ;

Препарат рибавирин куплен в розничной аптечной сети.

*Инструменты:*

Жидкостный хроматограф «МаэстроВЭЖХ» с детектором на диодной матрице

Хроматографические условия:

Колонка Кромасил С18 5 мкм 250 x 4.6 мм

Скорость потока 1 мл/мин

Длина волны 210 нм

Подвижная фаза: Раствор А: 0,1% раствор трифторуксусной кислоты; Раствор В: смесь раствора А и метанола (90:10); Градиент:

| Время, мин | А, % | В, % |
|------------|------|------|
| Исходный   | 90   | 10   |
| 5          | 90   | 10   |
| 15         | 0    | 100  |
| 17         | 0    | 100  |
| 19         | 90   | 10   |
| 35         | 90   | 10   |

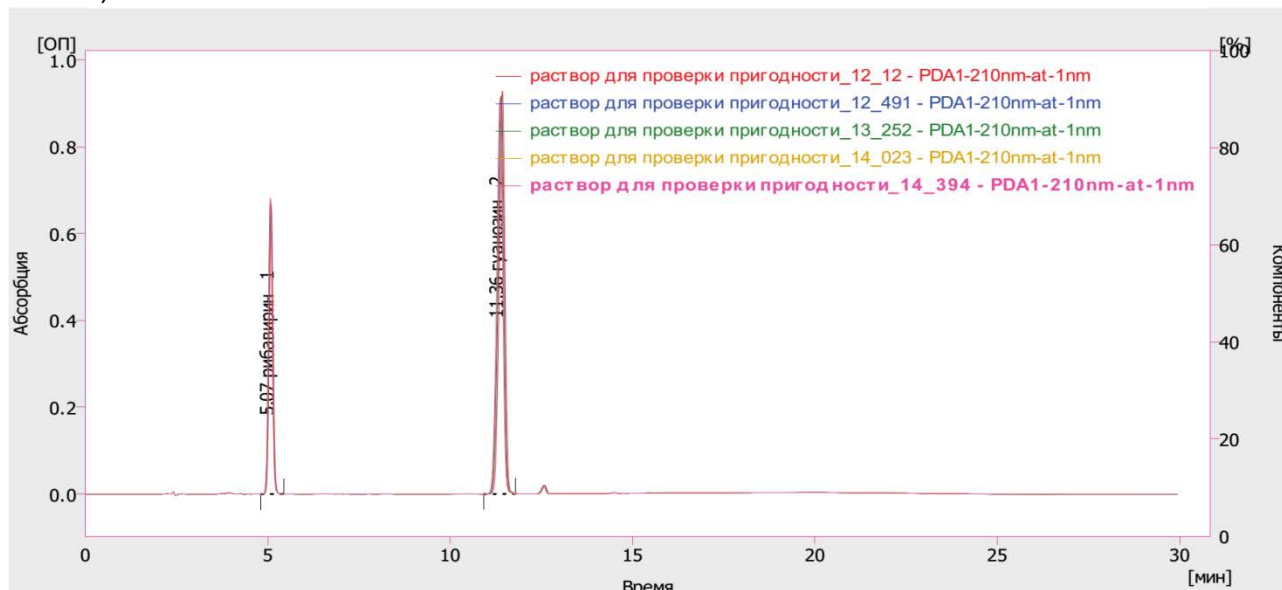
Вводимый объем пробы 20 мкл

## Результаты и обсуждения

Согласно ФС.2.1.0031.15 необходимо приготовить испытуемый раствор (0,02 г препарата рибавирин растворить в 100 мл раствора А), раствор сравнения (испытуемый раствор разбавить в 200 раз раствором А) и раствор для проверки пригодности хроматографической системы (5мг препарата рибавирин и 5 мг гуанозин растворить в 50 мл раствора А).

Ниже приведено наложение нескольких хроматограмм раствора для проверки пригодности хроматографической системы. Согласно ФС.2.1.0031.15 хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- если разрешение (R) между пиками рибавирин и гуанозина не менее 10;
- относительное стандартное отклонение площадей пиков рибавирин и гуанозина должно быть не более 2,0 %.



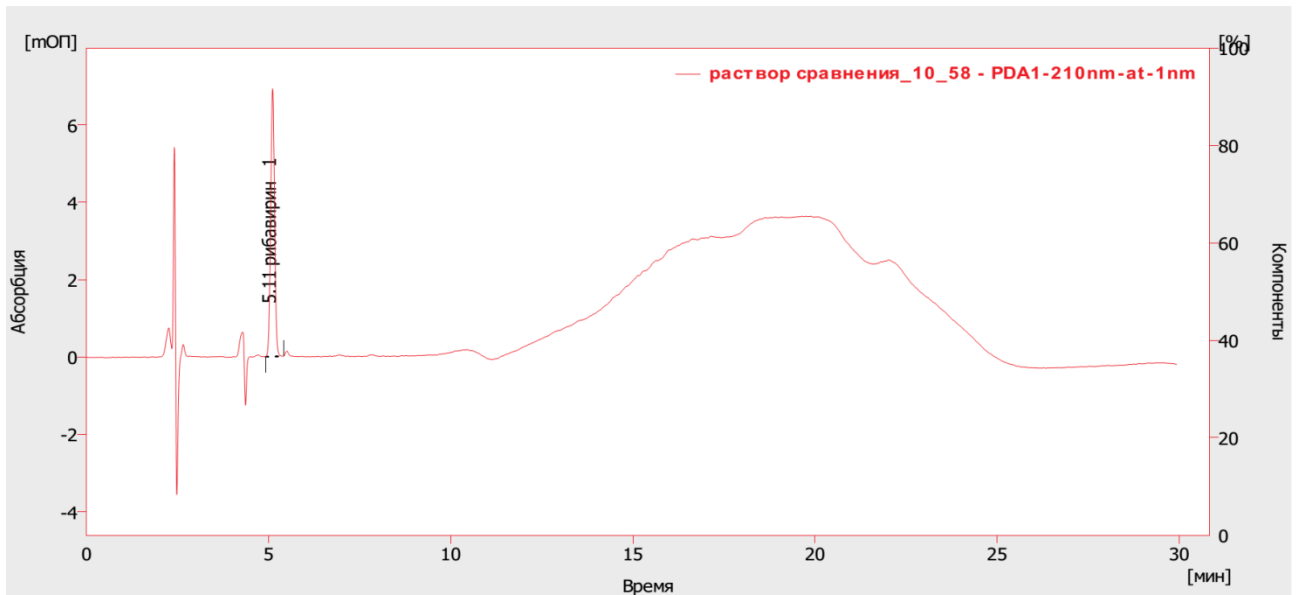
|   | Время уд. [мин] | Разрешающая способность [R] | Название вещества |
|---|-----------------|-----------------------------|-------------------|
| 1 | 5.067           |                             | рибавирин         |
| 2 | 11.360          | 24.216                      | гуанозин          |

|                  | Площадь пика [mОП.сек] |             |
|------------------|------------------------|-------------|
|                  | Рибавирин              | Гуанозин    |
| СКО, %           | <b>0.72</b>            | <b>0.70</b> |
| Среднее значение | 5067.076               | 10393.345   |
| 1                | 5016.194               | 10284.358   |
| 2                | 5045.121               | 10366.508   |
| 3                | 5073.406               | 10398.277   |
| 4                | 5100.755               | 10454.216   |
| 5                | 5099.905               | 10463.369   |

В нашем примере все требования к пригодности хроматографической системы выполняются.

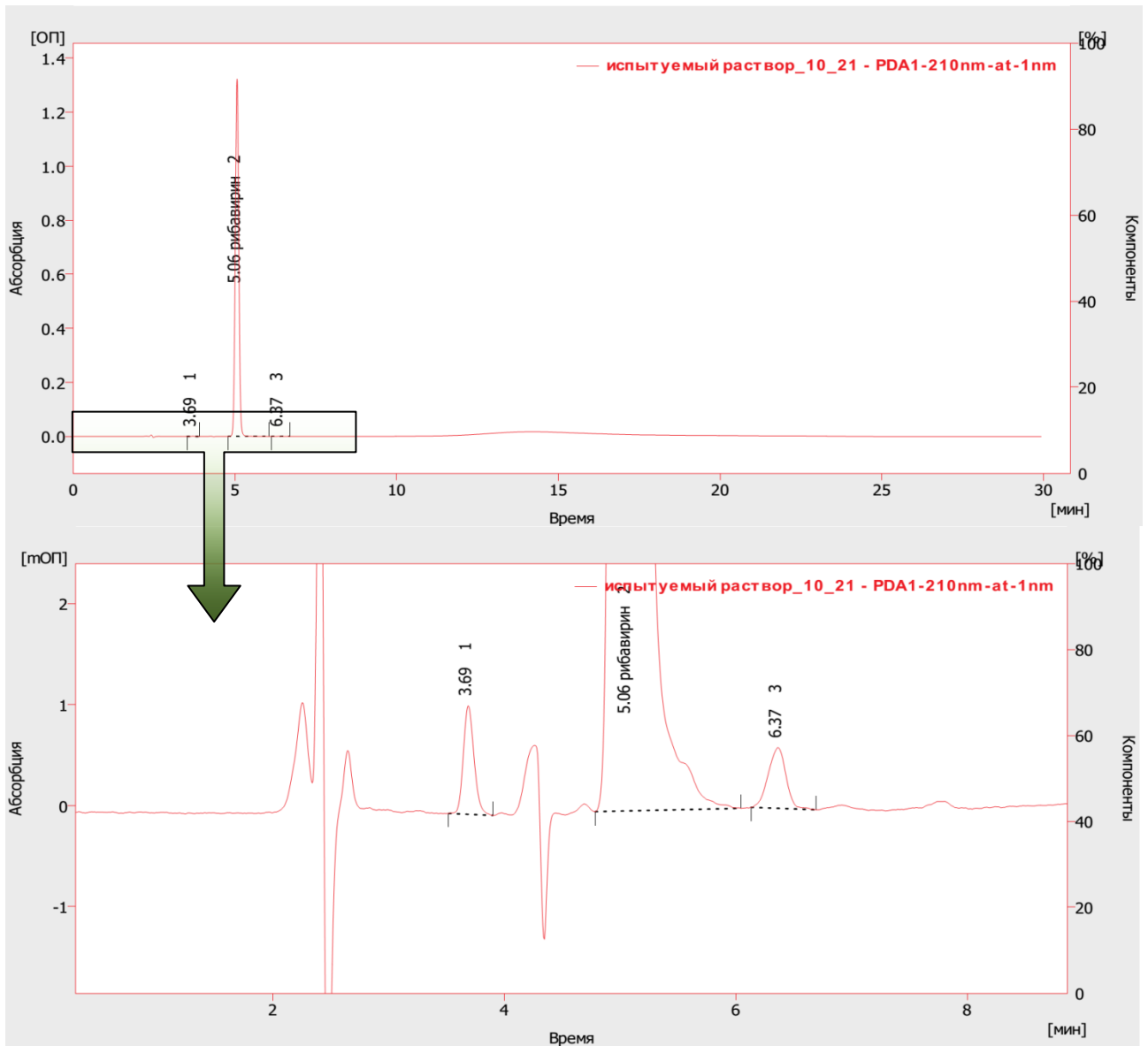
Далее были сняты хроматограммы испытуемого раствора и раствор сравнения.

Хроматограмма раствора сравнения:



|   | Время уд. [мин] | Площадь [мОП.сек] | Высота [мОП] | Название вещества |
|---|-----------------|-------------------|--------------|-------------------|
| 1 | 5.107           | 52.033            | 6.929        | рибавирин         |

Хроматограмма испытуемого раствора:



|   | Время уд. [мин] | Площадь [мОП.сек] | Высота [мОП] | Площадь [%] | Название вещества |
|---|-----------------|-------------------|--------------|-------------|-------------------|
| 1 | 3.687           | 6.911             | 1.076        | 0.1         |                   |
| 2 | 5.060           | 9885.962          | 1323.120     | 99.9        | рибавирин         |
| 3 | 6.367           | 6.407             | 0.601        | 0.1         |                   |

Согласно ФС.2.1.0031.15 на хроматограмме испытуемого раствора площадь пика каждой единичной примеси должна быть не более половины площади пика на хроматограмме раствора сравнения (0,25 %). Сумма площадей пиков всех примесей на хроматограмме испытуемого раствора должна быть не более удвоенной площади пика рибавирина на хроматограмме раствора сравнения (1,0 %). (см. сводную таблицу).

#### Сводная таблица результатов

| Требования ФС.2.1.0031.15   | Полученные результаты  |
|---|--|
| На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика каждой единичной примеси должна быть не более половины площади пика на хроматограмме раствора сравнения (0,25 %)         | На хроматограмме испытуемого раствора площадь пика каждой единичной примеси более чем в 3,5 раза меньше половины площади пика рибавирина на хроматограмме раствора сравнения |
| Сумма площадей пиков всех примесей на хроматограмме испытуемого раствора должна быть не более удвоенной площади пика рибавирина на хроматограмме раствора сравнения (1,0 %) | Сумма площадей пиков всех примесей на хроматограмме испытуемого раствора более чем в 7 раз менее удвоенной площади пика рибавирина на хроматограмме раствора сравнения       |

#### Выводы

Жидкостный хроматограф Маэстро ВЭЖХ с диодноматричным детектором пригоден для определения родственных примесей в лекарственном препарате рибавирин согласно ФС.2.1.0031.15. Прибор можно рекомендовать фармацевтическим предприятиям, выпускающим данный лекарственный препарат.

## За дополнительной информацией обращайтесь в компанию Интерлаб

Московская обл., Красногорский р-н, д. Гаврилково, ЭЖК Эдем, квартал 5, д.12  
т. (495) 788-09-83, ф. (495) 755-77-61  
www.interlab.ru  
e-mail: interlab@interlab.ru

Екатеринбург:  
т. (343) 379-57-33,  
ф. (343) 379-57-34  
e-mail: ural@interlab.ru

Новосибирск:  
т. (913)783-12-31  
e-mail: zverevav@interlab.ru

Санкт Петербург:  
т/ф. (812)643-14-23  
e-mail: spb@interlab.ru