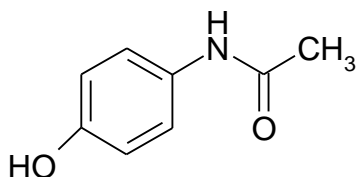
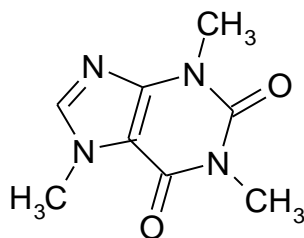


## Analiza ilościowa trzech substancji leczniczych w wybranych złożonych preparatach farmaceutycznych metodą RP-HPLC.



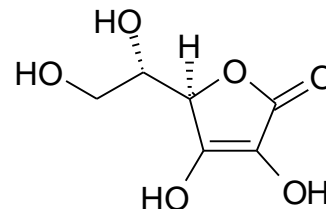
**Paracetamol**

Nazwa chemiczna: *N*-(4-hydroksyfenylo)acetamid



**Kofeina**

Nazwa chemiczna: 1,3,7-trimetylo-1*H*-puryno-2,6(3*H*,7*H*)-dion



**Witamina C**

Nazwa chemiczna: (*R*)-3,4-dihydroksy-5-((*S*)-1,2-dihydroksyetylo)furan-2(5*H*)-on

Paracetamol (inna nazwa acetaminofen) wykazuje działanie przeciwbólowe i przeciwgorączkowe. W przeciwieństwie do niesteroidowych leków przeciwzapalnych, nie wykazuje działania przeciwzapalnego, nie hamuje też agregacji płytek krwi i nie wpływa na proces krzepnięcia. Paracetamol występuje w preparatach prostych oraz jest składnikiem preparatów złożonych, w tym wielu leków stosowanych w leczeniu objawów grypy i przeziębienia. W terapii wykorzystuje się kombinację paracetamolu z kodeiną, kofeiną, kwasem acetylosalicylowym, ibuprofenem, difenhydraminą, dekstrometorfanem, fenylefryną, tramadolem czy witaminą C.

### 1. Przygotowanie roztworów badanych leków do analizy

- Tabletki lub saszetki musujące rozpuścić w niewielkiej ilości fazy ruchomej w zlewkach i przenieść ilościowo do kolb miarowych o pojemności 100 ml, dopełnić fazą ruchomą do kreski, dokładnie wymieszać i w razie potrzeby rozcieńczyć.

- Na wadze analitycznej zważyć 5 tabletek niemusujących i obliczyć średnią masę jednej tabletki. Tabletkę rozetrzeć w moździerzu i dokładnie wymieszać. Odważyć odpowiednią ilość masy tabletkowej i wyekstrahować metanolem lub wodą i oddzielić ekstrakt od stałej pozostałości.

## 2. Aparatura

Chromatograf ciekłowy LaChrom Elite wyposażony w pompę tłokową, degazer, autosampler, kolumnę ACE C18 100A, Advanced Chromatography Technologies (Aberdeen, Scotland) – o średnicy ziaren 5  $\mu\text{m}$ , długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm wyposażoną w prekolumnę, detektor DAD, komputerowy system rejestracji i przetwarzania danych.

## 3. Warunki rozdzielania i detekcji:

- faza ruchoma: metanol-woda (40 : 60 v/v)
- szybkość przepływu fazy ruchomej: 1,0 ml/min
- temperatura kolumny – 25°C
- ciśnienie na wlocie kolumny do 225 bar
- objętość próbki dozowanej na kolumnę 10  $\mu\text{l}$
- detekcja spektrofotometryczna przy 270 nm

## 4. Analiza jakościowa i ilościowa

Po zarejestrowaniu chromatogramu badanej próbki, porównać wartości czasów  $t_R$  oraz widma absorpcji z danymi uzyskanymi dla roztworów wzorcowych w celu identyfikacji składu badanego preparatu farmaceutycznego.

Na podstawie wielkości pól powierzchni składników badanej próbki obliczyć ich stężenie stosując metodę krzywej wzorcowej. Uwzględniając sposób przygotowania próbki (rozcieńczenie) obliczyć zawartość badanych substancji w mg w jednej tabletkie (saszetce).

## 5. Korzystając z poniższych wzorów dla związków zidentyfikowanych w próbce obliczyć następujące parametry retencyjne:

- a) współczynnik retencji  $k$
- b) liczbę pól teoretycznych  $N$  (przy założeniu, że piki są symetryczne)
- c) dla każdej pary związków obliczyć:
  - współczynnik rozdzielania  $\alpha$
  - rozdzielczość pików  $R_s$

$t_R$  – czas retencji

$w_b$  – szerokość przy podstawie pików

$t_M$  – czas retencji substancji nie zatrzymywanej wyrażony w minutach

$$t_M = \frac{L}{u}$$

L – długość kolumny w cm

u – prędkość liniowa fazy ruchomej 0,30 cm/s

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

$$N = 16 \left( \frac{t_R}{w_b} \right)^2$$

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1}$$

k<sub>2</sub> – współczynnik retencji związku silniej zatrzymywanego w kolumnie

$$R_s = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_{b1} + w_{b2}}$$

t<sub>R1</sub> – czas retencji substancji słabiej zatrzymywanej w kolumnie

t<sub>R2</sub> – czas retencji substancji silniej zatrzymywanej w kolumnie

w<sub>b1</sub> – szerokość przy podstawie piku 1 w minutach

w<sub>b2</sub> – szerokość przy podstawie piku 2 w minutach