

М. І. Дручок, Л. С. Логойда
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

РОЗРОБКА ВЕРХ-МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ КАРБОПЛАТИНУ В ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБАХ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ СОЛЕЙ ХАОТРОПНИХ АНІОНІВ

Вступ. Провідні фармакопеї світу регламентують проводити хроматографічне визначення карбоплатину з використанням амінопропільної хроматографічної колонки (клас L8). У науковій літературі описано розробку ВЕРХ-методик лікарських засобів на основі карбоплатину в різних матрицях з використанням іон-парних реагентів, проте такі методики мають певні недоліки. Ми у своїй роботі пропонуємо застосування солей хаотропних аніонів у складі рухомої фази на хроматографічній колонці C18 як перспективний підхід до розробки ВЕРХ-методик карбоплатину в лікарських засобах, що дасть змогу покращити утримування та форму піка.

Метою роботи була розробка експресної, простої, відтворюваної та «зеленої» ВЕРХ-методики визначення карбоплатину в лікарських засобах із використанням солей хаотропних аніонів.

Методи дослідження. Для проведення дослідження використовували рідинний хроматограф Shimadzu LC-2050 C з ДМД, для отримання хроматограм та інтегрування результатів – програмне забезпечення LabSolutions. Хроматографічна колонка – Luna C18 (100 x 4,6 мм, 3 мкм) виробництва Phenomenex, ФСЗ карбоплатину (чистота $\geq 99\%$, ВЕРХ) закуплено в Sigma-Aldrich Chemicals Co., лікарська форма Ebeve (10 мг/мл), Австрія.

Результати й обговорення. Важливою перевагою застосування солей хаотропних аніонів у складі рухомої фази є покращення симетрії піків та їх утримування, а також скорочення часу аналізу. Це можна досягти, використовуючи низькі кількості ацетонітрилу (ACN) (5–10 %) і високі кількості буферного розчину 40–50 мМ, одного з найсильніших хаотропів за теорією Гофмейстера KPF_6 (рН 2,3–2,5), у складі рухомої фази на колонках C18 або C8. Встановлено оптимальні хроматографічні умови визначення карбоплатину в лікарському засобі: хроматографічна колонка Luna C18 (100 x 4,6 мм, 3 мкм), рухома фаза – 5 % ACN та 95 % буферного розчину KPF_6 (40 мМ) рН 2,43, температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 195 нм, швидкість потоку – 0,6 мл/хв. Лінійність вивчали в діапазоні 15–90 мкг/мл методом найменших квадратів і розраховували рівняння регресії ($y = 10\,148x + 56\,213$) з коефіцієнтом кореляції ($R^2 = 0,9986$). Межа виявлення (МВ) становила 3,58 мкг/мл, межа кількісного визначення (МКВ) – 10,86 мкг/мл. Найсучаснішими інструментами вивчення «зеленості» AGREE (бал 0,74), MoGAPI (бал 81), Complex MoGAPI (бал 81), AGSA (бал 77,78), CaFRI (бал 82) та CACI (бал 79) встановлено, що запропонована ВЕРХ-методика є екологічно безпечною.

Висновки. Розроблено експресну, просту, відтворювану та «зелену» ВЕРХ-методику визначення карбоплатину в лікарських засобах із використанням солей хаотропних аніонів. Запропонована ВЕРХ-методика дає змогу провести хроматографування та кількісне визначення карбоплатину на C18 октадецилсилільній колонці та без застосовування іон-парних реагентів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: карбоплатин; кількісне визначення; ВЕРХ; хаотропи; зеленість.

ВСТУП. Карбоплатин, (SP-4-2)-діамін[циклобутан-1,1-ді(карбоксилато-кО)(2-)]платина, є хіміотерапевтичним засобом, який використовується для лікування різних видів раку, включно із саркомою, деякими карциномами, лімфомами та гермінативними пухлинами [1]. Хроматографічне визначення карбоплатину та його супровідних домішок було незвичайним випадком і проблемою через неорганічну структуру із центрально розташованим атомом платини [2]. Провідні фармакопеї світу (Європейська, Британська

та США) регламентують проводити хроматографічне визначення з використанням амінопропільної хроматографічної колонки (клас L8) [3–5]. У науковій літературі описано розробку аналітичних методик лікарських засобів на основі платини в різних матрицях із використанням різних підходів (використання іон-парних реагентів, амінопропільних колонок тощо), проте такі методики мають певні недоліки [6–12]. Ми у своїй роботі пропонуємо застосування солей хаотропних аніонів у складі рухомої фази на хроматографічній колонці C18 як перспективний підхід до розробки ВЕРХ-методик карбоплатину

в лікарських засобах, що дасть змогу покращити утримування та форму піка [13; 14]. У цій роботі ми представляємо вигідні ролі хаотропних агентів (солей) для успішної розв'язки обернено-фазової ВЕРХ з діодноматричним детектором (ДМД) методики. Включення сильної хаотропної солі в рухому фазу показало істотні спрощення та зменшення часу проведення аналізу. Запропонований підхід може бути використаний і у фармацевтичному аналізі інших аналітів.

Метою роботи була розробка експресної, простої, відтворюваної та «зеленої» ВЕРХ-методики визначення карбоплатину в лікарських засобах із використанням солей хаотропних аніонів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для проведення дослідження використовували рідинний хроматограф Shimadzu LC-2050 C з ДМД, для отримання хроматограм та інтегрування результатів – програмне забезпечення LabSolutions. У роботі використовували: ваги аналітичні електронні лабораторні RAD WAG

AS 200/C; ультразвукову баню (Elmasonic Easy 40 H, Germany), pH-метр (Mettler-Toledo, model LE438, Switzerland). Хроматографічна колонка – Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) виробництва Phenomenex.

ФСЗ карбоплатину (чистота ≥ 99 %, ВЕРХ) закуплено в Sigma-Aldrich Chemicals Co., лікарська форма Ebeve (10 мг/мл), Австрія. Калію гексафторфосфат (KPF_6), ацетонітрил (ACN), вода (≥ 99,9 % чистоти) отримано від Honeywell, Riedel-de Haen (Німеччина). Фосфорна кислота 88 % (для корегування pH) закуплена в Honeywell Fluka. Для фільтрування аналізованих розчинів використовували фільтри RS Membrane (розміром 0,45 мкм, Phenex, Німеччина).

Хроматографічні умови

Ізократичне хроматографічне розділення проводили на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм). Рухома фаза складалася з буфера 40 мМ KPF_6 (pH 2,43) та ACN (95:5). Рухома фаза була дегазована ультразвуком перед використанням. Температура колонки – 30 °C, швидкість потоку рухомої фази – 0,6 мл/хв,

Таблиця 1 – Параметри придатності хроматографічної системи до рис. 2

Пік	Час утримування, хв	Площа	Висота	Площа, %	Tailing F.	k'	Separation	NTP (USP)	HETP (USP)	Resolution (USP)
1	2,287	1563807	209315	97,651	1,220	0,000	–	1872	80,113	–
2	3,416	37613	7274	2,349	–	0,494	0,000	8269	18,141	6,244
Разом		1601420	216588	100,000						

Datafile Name: CARB_1.5_buffer pH 2.43 90- ACN 10 flow rate 0.6 column 30_001.lcd
Sample Name: CARB
Sample ID: 1.5

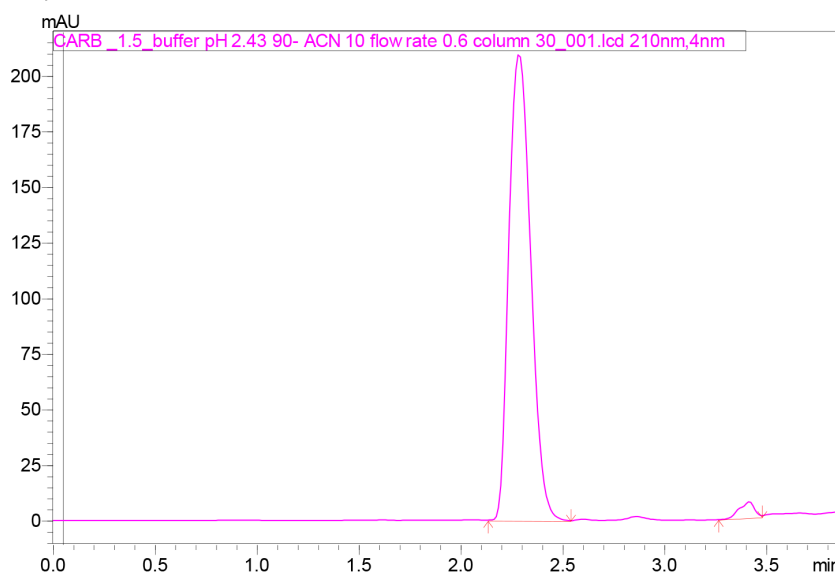


Рис. 1. Хроматограма карбоплатину (0,1 мг/мл) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) з ACN (10 %) і буфером KPF_6 40 мМ з pH 2,43 (90 %), температура колонки – 30 °C, детектування за довжини хвилі 210 нм

Таблиця 2 – Параметри придатності хроматографічної системи до рис. 2

Пік	Час утримування, хв	Площа	Висота	Площа, %	Tailing F.	k'	Separation	NTP (USP)	HETP (USP)	Resolution (USP)
1	2,967	1597203	291560	93,422	1,269	0,000	—	5308	28,258	—
2	3,507	112456	20243	6,578	—	0,182	0,000	9471	15,838	3,515
Разом		1709659	311802	100,000						

Datafile Name: CARB_1.5_buffer pH 2.43 95- ACN 5 flow rate 0.6_001.lcd
Sample Name: CARB
Sample ID: 1.5

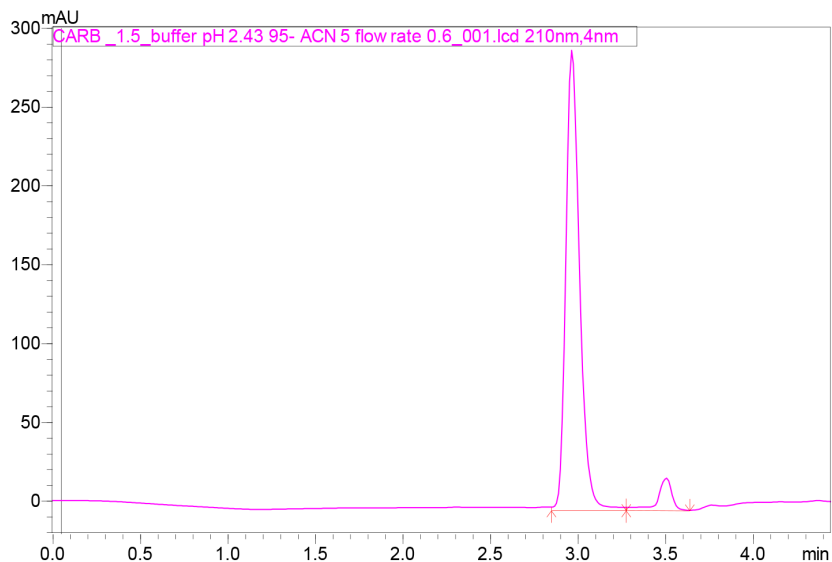


Рис. 2. Хроматограма карбоплатину (0,1 мг/мл) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) з ACN (5 %) і буфером KPF₆ 40 мМ з рН 2,43 (95 %), температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 210 нм

Datafile Name: CARB_1.5_buffer pH 2.43 95- ACN 5 flow rate 0.6 column 35_001.lcd
Sample Name: CARB
Sample ID: 1.5

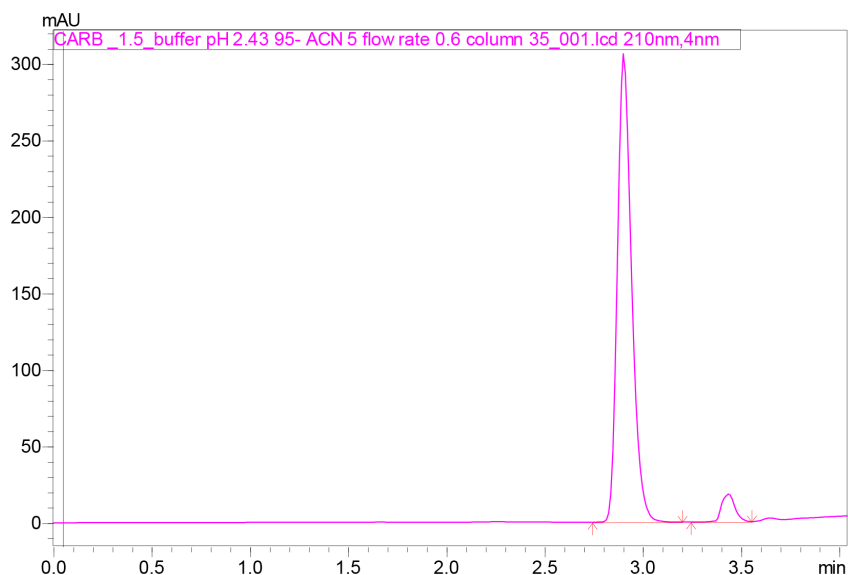


Рис. 3. Хроматограма карбоплатину (0,1 мг/мл) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) з ACN (5 %) і буфером KPF₆ 40 мМ з рН 2,43 (95 %), температура колонки – 35 °С, детектування за довжини хвилі 210 нм

Таблиця 3 – Параметри придатності хроматографічної системи до рис. 3

Пік	Час утримування, хв	Площа	Висота	Площа, %	Tailing F.	k'	Separation	NTP (USP)	HETP (USP)	Resolution (USP)
1	2,903	1550679	306145	94,767	1,270	0,000	–	5695	26,337	–
2	3,437	85619	18097	5,233	1,158	0,184	0,000	9237	16,240	3,597
Разом		1636298	324242	100,000						

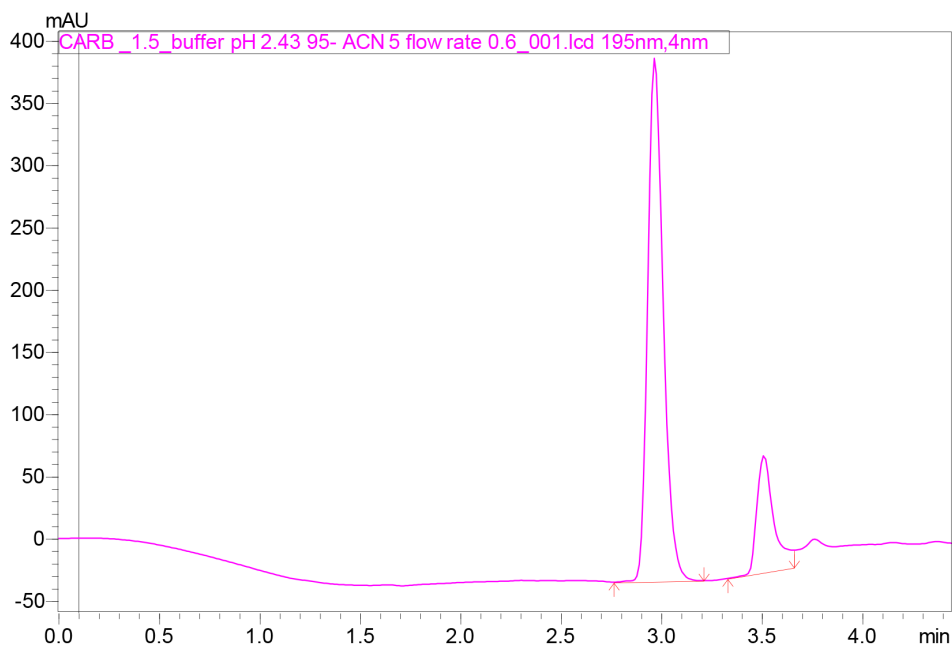
об'єм інжекції – 5 мкл. УФ-детектування проводилося за довжини хвилі 195 нм.

Приготування стандартних робочих розчинів

Розчиняють субстанцію в суміші розчинників і розводять сумішню розчинників,

рухомою фазою, унаслідок чого отримують тестовий розчин із концентрацією 0,1 мг/мл. Криві калібрування були побудовані в координатах залежності площ піків і концентрації аналізованої речовини в мкг/мл (діапазон – 15–90).

Datafile Name: CARB_1.5_buffer pH 2.43 95- ACN 5 flow rate 0.6_001.lcd
Sample Name: CARB
Sample ID: 1.5



Datafile Name: CARB_1.5_buffer pH 2.43 95- ACN 5 flow rate 0.6_001.lcd
Sample Name: CARB
Sample ID: 1.5

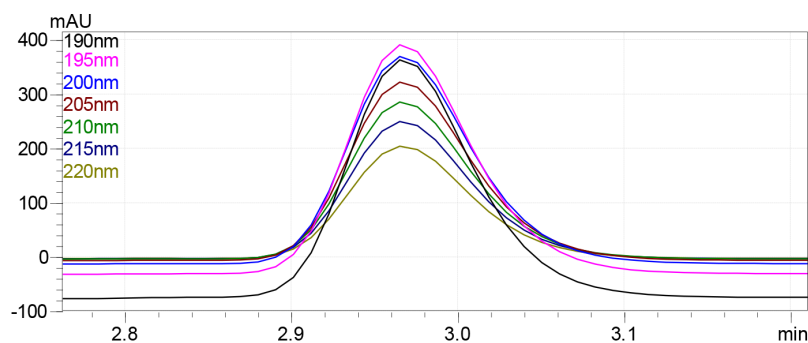


Рис. 4. Хроматограма карбоплатину (0,1 мг/мл) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) з АСН (5 %) і буфером KPF₆ 40 мМ з рН 2,43 (95 %), температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 195 нм, швидкість потоку – 0,6 мл/хв

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Теорія посилення взаємодії між аналітом і лігандом на оберненофазових колонках C-18 або C-8 припускає, що хаотропні аніони забезпечують кращу експозицію прихованих гідрофобних ділянок молекул до їхніх поверхонь, тим самим посилюючи гідрофобні сили між основним N-вмісним аналітом та алкілованою фазою. Узагальнений ефект цих взаємодій – це збільшення часу утримування та ємності утримування розділювальних молекул. Попередні експерименти показали, що ці взаємодії є більш інтенсивними, коли як рухома фаза використовується ACN, що, за припущенням, утворює товстіший багаточастинковий шар на стаціонарній фазі. Іншою важливою перевагою застосування солей

хаотропних аніонів у складі рухомої фази є покращення симетрії піків. Це можна досягти використанням низьких кількостей ACN (5–10 %) і високих кількостей буферного розчину 40–50 мМ, одного з найсильніших хаотропів за теорією Гофмейстера KPF_6 (рН 2,3–2,5), у складі рухомої фази на колонках C18 або C8. Нами розпочато попередні дослідження з використанням рухомої фази – буферного розчину 40 мМ KPF_6 (рН 2,43) та ACN (90:10) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм), швидкість потоку рухомої фази – 0,6 мл/хв, температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 210 нм (рис. 1). У таблиці 1 представлено параметри придатності хроматографічної системи до рис. 1. Час утримування

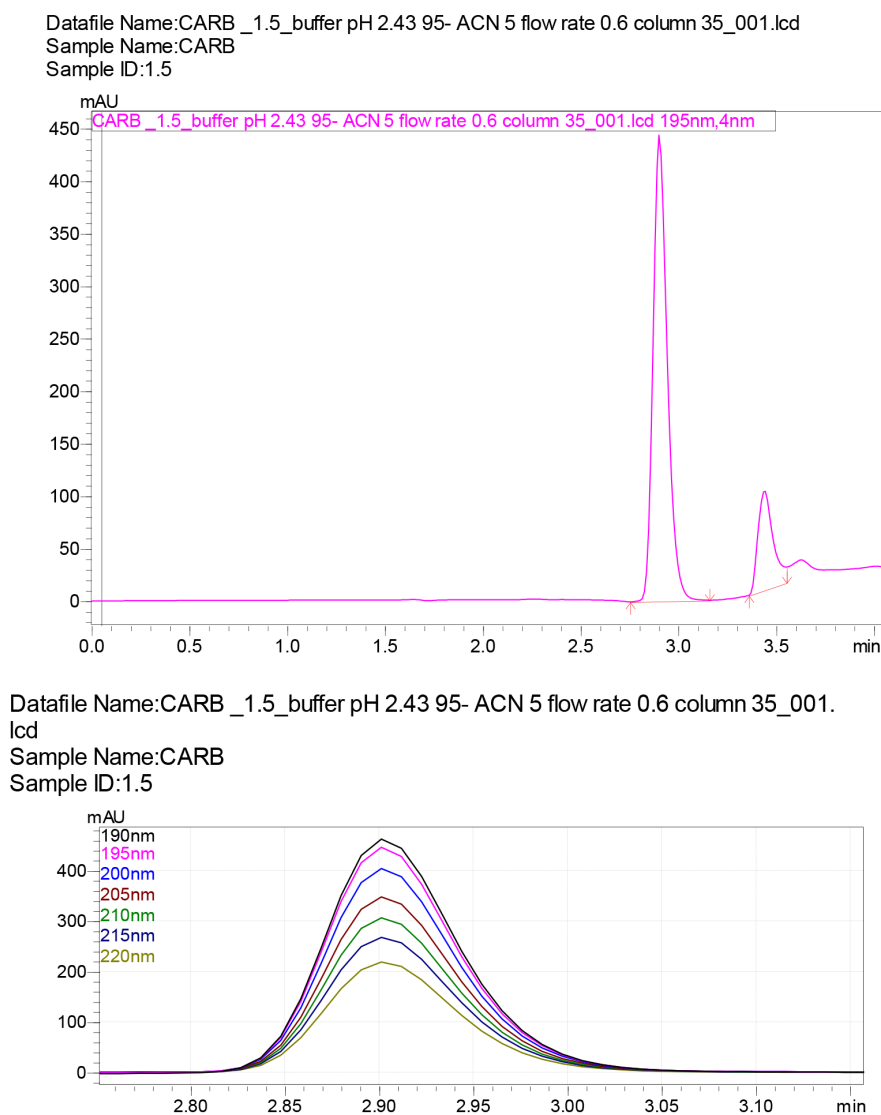


Рис. 5. Хроматограма карбоплатину (0,1 мг/мл) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) з ACN (5 %) і буфером KPF_6 40 мМ з рН 2,43 (95 %), температура колонки – 35 °С, детектування за довжини хвилі 195 нм, швидкість потоку – 0,6 мл/хв

карбоплатину становив 2,29 хв. На наступному етапі нами апробовано підхід з використанням рухомої фази – буферного розчину 40 мМ KPF_6 (рН 2,43) та ACN (95:5) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм), швидкість потоку рухомої фази – 0,6 мл/хв, температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 210 нм (рис. 2). У таблиці 2 представлено параметри придатності хроматографічної системи до рис. 2. Час утримування карбоплатину становив 2,97 хв. Параметри придатності хроматографічних систем є задовільними для обох підходів, проте кращі значення отримано з використанням співвідношення компонентів рухомої фази 40 мМ KPF_6 (рН 2,43) та ACN (95:5). Важливим є вибір температури колонки. Ми працювали на 30 °С, проте вирішили апробувати й температуру 30 °С. На рис. 3 представлено хроматограму розчину карбоплатину, отриману з використанням рухомої фази – буферного розчину 40 мМ KPF_6 (рН 2,43) та ACN (95:5) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм), швидкість потоку рухомої фази – 0,6 мл/хв, температура

колонки – 35 °С, детектування за довжини хвилі 210 нм. У таблиці 3 наведено параметри придатності хроматографічної системи до рис. 3. Час утримування карбоплатину становив 2,90 хв.

Як впливає з рис. 2, 3 та таблиць 2, 3, оптимальними є обидві температури, проте ми вибрали 30 °С. рН 2,43 буферного розчину KPF_6 (40 мМ) є відмінним, проте нами досліджено й інші значення рН. У цьому дослідженні оптимальною довжиною хвилі детектування є 195–210 нм. Ми розпочали експерименти з 210 нм, проте рис. 4 вказує на те, що оптимальною є довжина хвилі детектування 195 нм.

Проаналізовано також вказані вище хроматографічні умови і за температури колонки 35 °С, довжини хвилі детектування 195 нм (рис. 5, таблиця 4).

За результатами численних досліджень встановлено оптимальні хроматографічні умови визначення карбоплатину в лікарському засобі: хроматографічна колонка Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм), рухома фаза – 5 % ACN та 95 % буферного

Таблиця 4 – Параметри придатності хроматографічної системи до рис. 5

Пік	Час утримування, хв	Площа	Висота	Площа, %	Tailing F.	k'	Separation	NTP (USP)	HETP (USP)	Resolution (USP)
1	2,903	2253268	443806	81,254	1,268	0,000	–	5672	26,446	–
2	3,441	519859	94109	18,746	–	0,185	0,000	8198	18,298	3,514
Разом		2773126	537914	100,000						

Datafile Name: CARB_90_method 5 ACN-buffer 95 pH 2.43 flow rate 0,6_006.lcd
Sample Name: CARB
Sample ID: 90

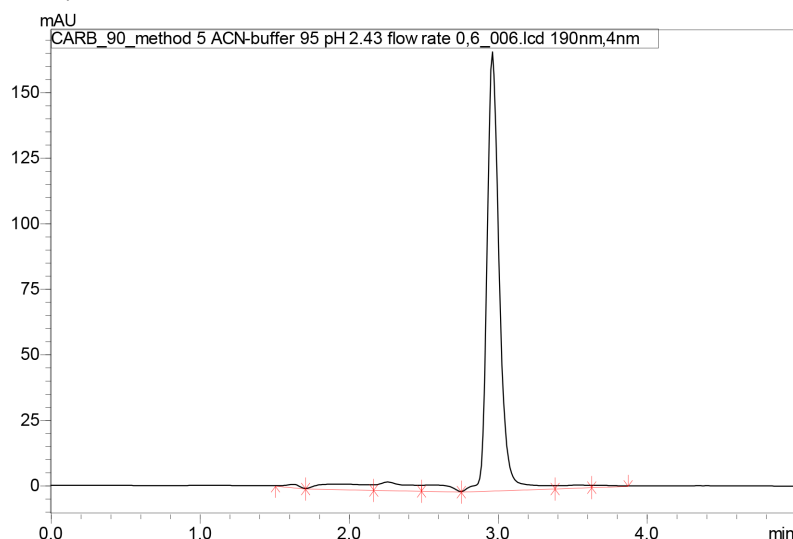


Рис. 6. Хроматограма карбоплатину (0,09 мг/мл) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) з ACN (5 %) і буфером KPF_6 40 мМ з рН 2,43 (95 %), температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 195 нм, швидкість потоку – 0,6 мл/хв (визначені оптимальні умови)

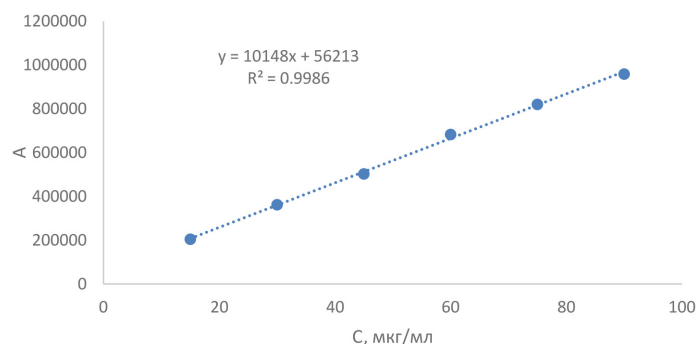


Рис. 7. Графік залежності площі піка від концентрації розчинів карбоплатину

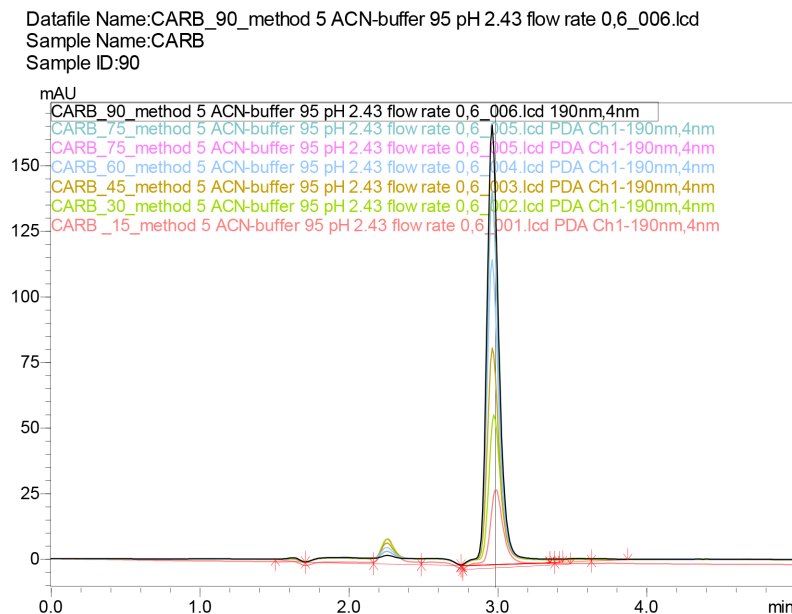


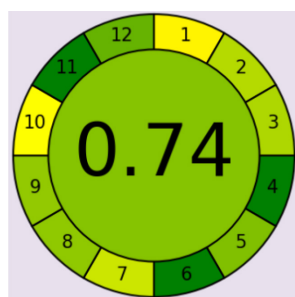
Рис. 8. Хроматограми, отримані за умов вивчення лінійності методики

Таблиця 5 – Результати вивчення правильності аналітичної методики

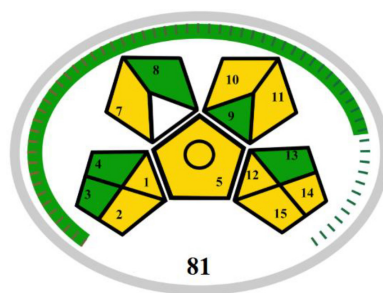
Модельні розчини	Вміст карбоплатину, %		Відношення знайденого до введеного, $Z_i = (Y_i/X_i) \cdot 100 \%$
	Введено, $X_i = (C_i/C_{rs}) 100 \%$	Знайдено, $Y_i = (A_i/A_{rs}) 100 \%$	
M_1	80,85	80,23	99,23
M_2	80,07	80,95	101,10
M_3	80,11	79,65	99,43
M_4	100,25	100,64	100,39
M_5	100,18	100,55	100,37
M_6	100,32	100,87	100,55
M_7	119,74	120,60	100,72
M_8	120,84	120,08	99,37
M_9	120,20	119,54	99,48
Середнє значення, Z , %			100,07
Стандартне відхилення, S_z , %			0,74
Відносний довірчий інтервал $\Delta z = t(95 \%, 8) \cdot S_z = 2,3060 S_z$, %			1,71
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta z \leq \max \Delta_{As} = 2,4 \%$			Виконується ($1,71 < 2,4$)
Систематична похибка $\delta = Z - 100 $, %			0,07
Критерій невизначеності систематичної похибки $\delta \leq \max \delta \%$			Виконується ($0,07 < 0,51$)
Коректна			Загальний висновок про методику

Таблиця 6 – Результати вивчення прецизійності аналітичної методики

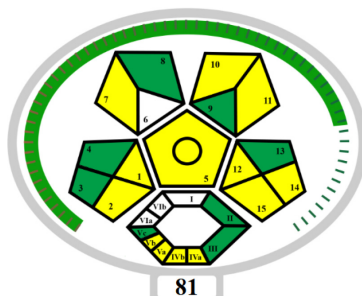
№ розчину	Величина Z_p , %		
	1-й дослід	2-й дослід	3-й дослід
1	100,19	99,82	99,73
2	99,69	100,37	99,82
3	99,93	100,23	100,42
4	100,11	100,04	100,11
5	100,35	99,69	100,10
6	99,90	99,99	99,80
Середнє Z (%)	100,03	100,03	100,00
RSD_x , %	0,24	0,25	0,26
Відносне стандартне відхилення, RSD_z (%)	0,25		
Відносний довірчий інтервал, Δ_z	0,25 $\leq$ 2,4		
Критичне значення збіжності результатів Δ_{As} , %	2,4		



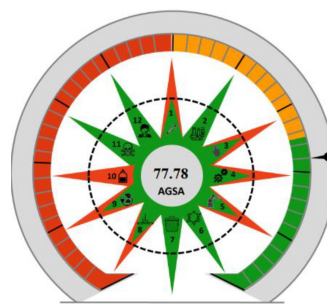
а



б



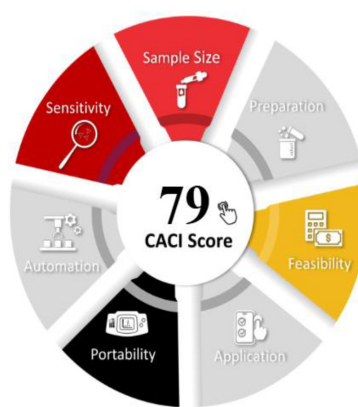
в



г



д



е

Рис. 9. Результати вивчення екологічності розробленої ВЕРХ-методики визначення карбоплатину інструментами AGREE (А), MoGAPI (В), Complex MoGAPI (С), AGSA (D), CaFRI (E) та CACI (F)

розчину KPF₆ (40 мМ) з рН 2,43, температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 195 нм, швидкість потоку – 0,6 мл/хв. Типову хроматограму за вказаних умов наведено на рис. 6.

Валідацію аналітичної методики проводили за такими валідаційними характеристиками, як лінійність, робастність, правильність і прецизійність [15]. Лінійність вивчали в діапазоні 15–90 мкг/мл методом найменших квадратів і розраховували рівняння регресії з коефіцієнтом кореляції. Результати вивчення лінійності наведено на рис. 7. Хроматограми, отримані за умов вивчення лінійності, представлено на рис. 8.

Межа виявлення (МВ) становила 3,58 мкг/мл, межа кількісного визначення (МКВ) – 10,86 мкг/мл.

Для вивчення валідаційного параметра «правильність» готували модельні зразки з точними концентраціями АФІ карбоплатину в діапазоні 80–120 %. Результати вивчення правильності та прецизійності наведено в таблицях 5, 6. Отримані результати відповідають критеріям прийнятності.

Уникнення використання токсичних розчинників, зменшення кількості ацетонітрилу (співвідношення до буферного розчину – 5 до 95) у складі рухомої фази, експресний аналіз і повільна швидкість подачі рухомої

фази (а отже, менші відходи), ізократичне елюювання та мінімізація пробопідготовки дали змогу отримати «зелений» аналіз, що підтверджено найсучаснішими інструментами вивчення «зеленості» AGREE (бал 0,74), MoGAPI (бал 81), Complex MoGAPI (бал 81), AGSA (бал 77,78), CaFRI (бал 82) та CACI (бал 79) (рис. 9) [16–21].

ВИСНОВКИ. Розроблено експресну, просту, відтворювану та «зелену» ВЕРХ-методику визначення карбоплатину в лікарських засобах із використанням солей хаотропних аніонів. Запропонована ВЕРХ-методика дає змогу провести хроматографування та кількісне визначення карбоплатину на С18 октадецилсилільній колонці та без застосовування іон-парних реагентів. Проведено валідацію аналітичної методики. Методика є лінійною в діапазоні концентрацій від 15 до 90 мкг/мл. Інструментами вивчення екологічності аналітичних методик AGREE, MoGAPI, Complex MoGAPI, AGSA, CaFRI та CACI показано, що розроблена ВЕРХ-методика є «зеленою». Крім того, вказана методика є економічно вигідною та доступною для лабораторій, які не мають в арсеналі дороговартісних специфічних хроматографічних колонок (наприклад, амінопропільних).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Zhang C., Xu C., Gao X., Yao Q. Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics*. 2022. Vol. 12, No. 5. P. 2115.
2. PubChem – National Library of Medicine. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/> (accessed on 31 May 2025).
3. European Pharmacopoeia. 11th ed. (2022). URL: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-11th-edition> (accessed on 22 March 2025).
4. The United States Pharmacopeia (2021). The National Formulary. Rockville, Md.: United States Pharmacopeial Convention, Inc.; URL: <https://www.uspnf.com> (accessed on 22 March 2025).
5. British Pharmacopoeia Commission. British Pharmacopoeia. London : TSO, 2025.
6. Zhao Z., Tepperman K., Dorsey J. G., Elder R. C. Determination of cisplatin and some possible metabolites by ion-pairing chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1993. Vol. 615, No. 1. P. 83–89.
7. Kaushik K. H., Sripuram V. K., Bedada S., Reddy N. Y., Priyadarshini G. I., Devarakonda K. R. A simple and sensitive validated HPLC method for

quantitative determination of cisplatin in human plasma. *Clinical Research and Regulatory Affairs*. 2010. Vol. 27, No. 1. P. 1–6.

8. Ramos Y., Hernández C., Fernandez L. A., Bataller M., Veliz E., Small R. Optimization of a HPLC procedure for simultaneous determination of cisplatin and the complex cis, cis, trans-diamminedichlorodihydroxoplatinum (IV) in aqueous solutions. *Química Nova*. 2011. Vol. 34. P. 1450–1454.

9. Toro-Cyrdoval A., Ledezma-Gallegos F., Mondragon-Fuentes L., Jurado R., Medina L. A., Pérez-Rojas J. M., García-López P. Determination of liposomal cisplatin by high-performance liquid chromatography and its application in pharmacokinetic studies. *Journal of chromatographic science*. 2016. Vol. 54, No. 6. P. 1016–1021.

10. Mittal A., Chitkara D., Kumar N. HPLC method for the determination of carboplatin and paclitaxel with cremophor EL in an amphiphilic polymer matrix. *Journal of chromatography B*. 2007. Vol. 855, No. 2. P. 211–219.

11. Rama Devi. P., Rambabu K. Rapid determination of carboplatin and docetaxel using RP-HPLC with PDA detector. *International journal of applied pharmaceuticals*. 2022. Vol. 14, No. 2. P. 186–192.

12. Hayat M. M., Sohail M., Ashraf, M. Spectrophotometric determination of cisplatin, carboplatin

and oxaliplatin in pure and injectable dosage forms. *Biomed. Res.* 2019. Vol. 3. P. 557–562.

13. Kazakevich Y. V., Lobrutto R. *HPLC for pharmaceutical scientists*. John Wiley & Sons. 2006.

14. Horyn M., Piponski M., Zaremba T., Kucher T., Balkanov S. K., Stoimenova T. B., Logoyda L. Application of salts of chaotropic anions in the development of hplc methods for the determination of meldonium in dosage forms. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2023. Vol. 41. P. 14–22.

15. ICH Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2 (R2), Geneva. 2023. ICH_Q2(R2)_Guideline_2023_1130.pdf (accessed on 24 June 2025).

16. Pena-Pereira F., Wojnowski W., Tobiszewski M. AGREE – Analytical GREENness metric approach and software. *Analytical chemistry*. 2020. Vol. 92, No. 14. P. 10076–10082.

17. Mansour F. R., Płotka-Wasyłka J., Locatelli M. Modified GAPI (MoGAPI) tool and software for the

assessment of method greenness: case studies and applications. *Analytica*. 2024. Vol. 5, No. 3. P. 451–457.

18. Mansour F. R., Omer K. M., Płotka-Wasyłka J. A total scoring system and software for complex modified GAPI (ComplexMoGAPI) application in the assessment of method greenness. *Green Analytical Chemistry*. 2024. Vol. 10. P. 100126.

19. Mansour F. R., Bedair A., Belal F., Magdy G., Locatelli M. Analytical Green Star Area (AGSA) as a new tool to assess greenness of analytical methods. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2025. Vol. 46. P. 102051.

20. Mansour F. R., Nowak P. M. Introducing the carbon footprint reduction index (CaFRI) as a software-supported tool for greener laboratories in chemical analysis. *BMC chemistry*. 2025. Vol. 19, No. 1. P. 121.

21. Mansour F. R., Bedair A., Locatelli M. Click analytical chemistry index as a novel concept and framework, supported with open source software to assess analytical methods. *Advances in Sample Preparation*. 2025. Vol. 14. P. 100164.

REFERENCES

1. Zhang, C., Xu, C., Gao, X., & Yao, Q. (2022). Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics*, 12 (5), 2115.

2. PubChem – National Library of Medicine. Retrieved from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/> (accessed on 31 May 2025).

3. European Pharmacopoeia. 11th ed. (2022 Retrieved from: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-11th-edition> (accessed on 22 March 2025).

4. The United States Pharmacopeia (2021). The National Formulary. Rockville, Md.: United States Pharmacopeial Convention, Inc. Retrieved from: <https://www.uspnf.com> (accessed on 22 March 2025).

5. British Pharmacopoeia Commission (2025). British Pharmacopoeia. London: TSO.

6. Zhao, Z., Tepperman, K., Dorsey, J. G., & Elder, R. C. (1993). Determination of cisplatin and some possible metabolites by ion-pairing chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 615 (1), 83–89.

7. Kaushik, K. H., Sripuram, V. K., Bedada, S., Reddy, N. Y., Priyadarshini, G. I., & Devarakonda, K. R. (2010). A simple and sensitive validated HPLC method for quantitative determination of cisplatin in human plasma. *Clinical Research and Regulatory Affairs*, 27 (1), 1–6.

8. Ramos, Y., Hernández, C., Fernandez, L. A., Bataller, M., Veliz, E., & Small, R. (2011). Optimization of a HPLC procedure for simultaneous determination of cisplatin and the complex cis, cis, trans-diamminedichlorodihydroxoplatinum (IV) in aqueous solutions. *Quimica Nova*, 34, 1450–1454.

9. Toro-Cyrdoma, A., Ledezma-Gallegos, F., Mondragon-Fuentes, L., Jurado, R., Medina, L. A., Páez-Rojas, J. M., & Garcia-Lopez, P. (2016). Determination of liposomal cisplatin by high-performance liquid

chromatography and its application in pharmacokinetic studies. *Journal of chromatographic science*, 54 (6), 1016–1021.

10. Mittal, A., Chitkara, D., & Kumar, N. (2007). HPLC method for the determination of carboplatin and paclitaxel with cremophorEL in an amphiphilic polymer matrix. *Journal of chromatography B*, 855 (2), 211–219.

11. Rama Devi., P, Rambabu, K. (2022). Rapid determination of carboplatin and docetaxel using RP-HPLC with PDA detector. *International journal of applied pharmaceuticals*, 14 (2), 186–192.

12. Hayat, M. M., Sohail, M., & Ashraf, M. (2019). Spectrophotometric determination of cisplatin, carboplatin and oxaliplatin in pure and injectable dosage forms. *Biomed. Res.* 3, 557–562.

13. Kazakevich, Y. V., & Lobrutto, R. (2006). *HPLC for pharmaceutical scientists*. John Wiley & Sons.

14. Horyn, M., Piponski, M., Zaremba, T., Kucher, T., Balkanov, S. K., Stoimenova, T. B., Logoyda, L. (2023). Application of salts of chaotropic anions in the development of hplc methods for the determination of meldonium in dosage forms. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 41 (41), 14–22.

15. ICH Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2 (R2), Geneva. 2023. ICH_Q2(R2)_Guideline_2023_1130.pdf (accessed on 24 June 2025).

16. Pena-Pereira, F., Wojnowski, W., & Tobiszewski, M. (2020). AGREE – Analytical GREENness metric approach and software. *Analytical chemistry*, 92 (14), 10076–10082.

17. Mansour, F. R., Płotka-Wasyłka, J., & Locatelli, M. (2024). Modified GAPI (MoGAPI) tool and software for the assessment of method greenness: case studies and applications. *Analytica*, 5 (3), 451–457.

18. Mansour, F. R., Omer, K. M., & Płotka-Wasyłka, J. (2024). A total scoring system and software for complex modified GAPI (ComplexMoGAPI) application in the assessment of method greenness. *Green Analytical Chemistry*, 10, 100126.

19. Mansour, F. R., Bedair, A., Belal, F., Magdy, G., & Locatelli, M. (2025). Analytical Green Star Area (AGSA) as a new tool to assess greenness of analytical methods. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 46, 102051.

20. Mansour, F. R., & Nowak, P. M. (2025). Introducing the carbon footprint reduction index (CaFRI)

as a software-supported tool for greener laboratories in chemical analysis. *BMC chemistry*, 19 (1), 121.

21. Mansour, F. R., Bedair, A., & Locatelli, M. (2025). Click analytical chemistry index as a novel concept and framework, supported with open source software to assess analytical methods. *Advances in Sample Preparation*, 14, 100164.

Адреса для листування: druchok_maiv@tdmu.edu.ua

M. I. Druchok, L. S. Logoyda

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

DEVELOPMENT OF THE HPLC METHOD FOR THE DETERMINATION OF CARBOPLATIN IN MEDICINAL PRODUCTS USING SALTS OF CHAOTROPIC ANIONS

Summary

Introduction. The leading pharmacopoeias of the world regulate the chromatographic determination of carboplatin using an amino-propyl chromatographic column (class L8). The scientific literature describes the development of HPLC methods for pharmaceuticals based on carboplatin in various matrices using ion-pair reagents, however, such methods have certain drawbacks. In our work, we propose the application of chaotropic anion salts as a promising approach for the development of HPLC methods for carboplatin in pharmaceuticals, which will improve retention and peak shape.

The aim of the work was to develop the express, simple, reproducible, and green method for the determination carboplatin in pharmaceuticals using salts of chaotropic anions.

Research Methods. For the study, a Shimadzu LC-2050 C liquid chromatograph with DAD was used to obtain chromatograms and integrate results using LabSolutions software. The chromatographic column was a Luna C18 (100 × 4.6 mm, 3 μm) purchased from Phenomenex. The Carboplatin API (purity ≥ 99 %, HPLC) was procured from Sigma-Aldrich Chemicals Co., and the medicinal product "Ebeve" (10 mg/ml, Austria) was used.

Results and Discussion. An important advantage of using salts of chaotropic anions in the mobile phase is the improvement of peak symmetry and retention, as well as the reduction of analysis time. This can be achieved by using low amounts of acetonitrile (ACN) (5–10 %) and high amounts of a buffer solution of 40–50 mM of one of the strongest chaotropes according to Hofmeister's theory, KPF₆ (pH 2.3–2.5) in the mobile phase on C18 or C8 columns. Optimal chromatographic conditions for the determination of carboplatin in a medicinal product have been established: chromatographic column Luna C18 (100 × 4.6 mm, 3 μm), mobile phase – 5 % ACN and 95 % buffer solution KPF₆ (40 mM) pH 2.43, column temperature – 30 °C, detection at a wavelength of 195 nm, flow rate – 0.6 ml/min. Linearity was studied in the range of 15–90 μg/ml using the method of least squares, and the regression equation ($y = 10148x + 56213$) was calculated with a correlation coefficient ($R^2 = 0.9986$). The limit of detection (LOD) was 3.58 μg/ml, and the limit of quantification (LOQ) was 10.86 μg/ml. The most modern tools for studying greenness AGREE (score 0.74), MoGAPI (score 81), Complex MoGAPI (score 81), AGSA (score 77.78), CaFRI (score 82), and CACI (score 79) have established that the proposed HPLC method is ecologically safe.

Conclusions. Express, simple, reproducible, and green HPLC method for the determination of carboplatin in pharmaceutical products has been developed using chaotropic anion salts. The proposed HPLC method enables the chromatography and quantitative determination of carboplatin on a C18 octadecylsilane column without the use of ion-pair reagents.

KEY WORDS: carboplatin; quantitative determination; HPLC; chaotropes; greenness.

Стаття надійшла до редакції 11.09.2025

Стаття прийнята 30.09.2025

Статтю опубліковано 24.10.2025



ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ