

©М. І. Дручок <https://orcid.org/0009-0002-1431-0280>
©Л. С. Логойда <https://orcid.org/0000-0001-8230-9359>

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,
Тернопіль, Україна

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ КАПТОПРИЛУ В ТАБЛЕТКАХ З ВИКОРИСТАННЯМ СОЛЕЙ ХАОТРОПНИХ АНІОНІВ

Вступ. Аналіз каптоприлу за допомогою обернено-фазової рідинної хроматографії не є складним завданням, проте через пролінову структуру каптоприлу може елююватися близько мертвого об'єму, що створює проблеми у проведенні кількісного визначення. Другою проблемою є схильність піка каптоприлу до деформації із хвостовим ефектом та давати несиметричний пік. Ми у своїй роботі пропонуємо застосування солей хаотропних аніонів у складі рухомої фази на колонці C18 як перспективний підхід до ефективної аналітичної розробки, що дасть змогу покращити утримування та форму піка каптоприлу.

Метою роботи була розробка експресної, простої та зеленої ВЕРХ методики визначення каптоприлу в таблетках з використанням солей хаотропних аніонів.

Методи дослідження. У нашій роботі використовували рідинний хроматограф Shimadzu LC-2050 C, Agilent 1260, з діодно-матричним детектором (Японія), програмне забезпечення LabSolutions, хроматографічну колонку – Zorbax SB-C18 (150 x 4.6 мм 3.5 мкм). ФСЗ каптоприлу (чистота $\geq 99\%$, ВЕРХ) закуплено в Sigma-Aldrich Chemicals Co., таблетки «Каптоприл» (25 мг, ПАТ «Київмедпрепарат», ARTERIUM).

Результати й обговорення. За умов рухомої фази ACN–вода, PF_6^- проявляє найбільше утримування і є найліофільнішим іоном у серії Гоффмейстера. PF_6^- має найвищий ступінь делокалізації заряду та найвищу поляризованість, що полегшує його дисперсійні (або ван-дер-ваальсові) взаємодії. В результаті проведених численних експериментальних досліджень встановлено оптимальні хроматографічні умови визначення каптоприлу в таблетках: хроматографічна колонка Zorbax SB-C18 (150 x 4.6 мм 3.5 мкм), рухома фаза – 30 % ACN та 70 % буферний розчин pH 2.10 (0.25 % KPF_6 , 0.1 % HClO_4 , 0.1 % KH_2PO_4), температура колонки – 40 °C, детектування за довжини хвилі 200 нм, швидкість потоку – 1.0 мл/хв, розчинник – рухома фаза. Лінійність аналітичної методики вивчали в діапазоні 40–120 мкг/мл методом найменших квадратів та розраховували рівняння регресії ($y=12096x-45214$) з коефіцієнтом кореляції ($R^2=0.9998$). Межа виявлення (МВ) становила 8.51 мкг/мл, межа кількісного визначення (МКВ) – 25.80 мкг/мл. Найсучаснішими інструментами вивчення зеленості AGREE (бал 0.72), MoGAPI (бал 81), Complex MoGAPI (бал 81), AGSA (бал 73.61), CaFRI (бал 74) та CACI (бал 82) встановлено, що запропонована ВЕРХ методика є екологічно безпечною.

Висновки. Розроблено експресну, просту та зелену ВЕРХ методику визначення каптоприлу в таблетках з використанням солей хаотропних аніонів. Запропонована ВЕРХ методика дає змогу провести кількісне визначення каптоприлу в таблетках з отриманням симетричного піку, який не елюється близько мертвого об'єму. Окрім того, розроблена ВЕРХ методика може бути використана для аналізу супровідних домішок.

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

Вступ. Каптоприл, (2S)-1-[(2S)-2-Метил-3-сульфанілпропанойл]піролідин-2-карбонова кислота, є синтетичним інгібітором ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ), який має швидку дію та широко застосовується для лікування артеріальної гіпертензії [1]. Державна фармакопея України регламентує проведення кількісного визначення каптоприлу в субстанції методом прямої йодометрії, в супровідні домішки – методом рідинної хроматографії з використанням октадецилсилільної колонки та градієнтного елюювання рухомої фази А (розчин кислоти фосфорної) та В (фосфорна кислота – ацетонітрil (ACN) – вода (0.08:50:50), температура 50 °C. Градієнтне елюювання запрограмоване на 45 хв, що не є експресним та незручним для рутинних лабораторій. ДФУ також регламен-

тує проводити кількісне визначення каптоприлу в таблетках методом рідинної хроматографії. Методика ідентична як і для визначення каптоприлу дисульфиду (супровідної домішки, нормування 3.0 %) – пропонується застосування октадецилсилільної колонки, ендкетованої (5 мкм), ізократичне елюювання рухомою фазою – фосфорна кислота концентрована – вода – метанол (0.5:450:550), детектування спектрофотометрично за довжини хвилі 220 нм [2, 3]. В науковій літературі описано ряд методик вискоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) визначення каптоприлу та супровідних домішок в таблетках, проте вони мають певні недоліки у зв'язку з часом їх розробки (несиметричні піки, неекспресність, незеленість та інші) [4–9]. Наша наукова група має досвід у розробці

ВЕРХ методик визначення каптоприлу в таблетках, проте у попередніх роботах був застосований підхід з використанням кислоти трифтороцтової [10]. На цьому етапі нами заплановано розробку ВЕРХ методики визначення каптоприлу в таблетках, яка була б зелена, експресна, давала симетричний пік каптоприлу та можливість визначення також супровідних домішок (зокрема каптоприлу дисульфиду). Цього можна досягти введенням в рухому фазу хаотропних солей, які широко використовувалися для аналізу протонованих основних сполук у системах обернено-фазової хроматографії [11].

Метою роботи була розробка експресної, простої та зеленої ВЕРХ методики визначення каптоприлу в таблетках з використанням солей хаотропних аніонів.

Матеріал і методи дослідження. У нашій роботі використовували рідинний хроматограф Shimadzu LC-2050 C, Agilent 1260, з діодно-матричним детектором (Японія), програмне забезпечення LabSolutions, ваги аналітичні електронні лабораторні "RAD WAG AS 200/C"; ультразвукова баня Elmasonic Easy 40 H, Germany, рН метр Mettler-Toledo, model LE438, (Швейцарія). Хроматографічна колонка – Zorbax SB-C18 (150 × 4.6 мм 3.5 мкм) придбана в Agilent (США).

ФСЗ каптоприлу (чистота ≥99 %, ВЕРХ) закуплено в Sigma-Aldrich Chemicals Co., таблетки «Каптоприл» (25 мг, ПАТ «Київмедпрепарат», ARTERIUM). Калію гексафторфосфат (KPF_6), кислоту хлорну ($HClO_4$), ACN, вода (≥99.9 % чистоти) отримано від Honeywell, Honeywell Fluka, Riedel-de Haen (Німеччина). Для фільтрування аналізованих розчинів використовували фільтри RS Membrane (розміром 0.45 мкм, Phenex, Німеччина).

Хроматографічні умови

Ізократичне хроматографічне розділення проводили на колонці Zorbax SB-C18 (150 × 4.6 мм 3.5 мкм). Рухома фаза складалася з буферного розчину рН 2.10 (0.25 % KPF_6 , 0.1 % $HClO_4$, 0.1 % KH_2PO_4) та ACN (70:30). Рухому фазу дегазовано ультразвуком перед використанням. Температура колонки – 40 °C, швидкість потоку рухомої фази – 1.0 мл/хв, об'єм інжекції – 5 мкл. Детектування проводили спектрофотометрично за довжини хвилі 200 нм.

Приготування стандартних робочих розчинів. Розчиняють субстанцію/порошок розтертих таблеток еквівалентний 25 мг каптоприлу в суміші розчинників і розводять сумішню розчинників, рухомою фазою, в результаті чого отримують тестовий розчин з концентрацією 0.1 мг/мл. Побудовано криві калібрування в діапазоні концентрацій 20–100 мкг/мл.

Результати й обговорення. Каптоприл – це водорозчинна молекула з $\log P = 0.34$, $pK_a1 = 3.7$;

$pK_a2 = 9.8$ [1]. Прямий аналіз каптоприлу за допомогою обернено-фазової рідинної хроматографії не є складним, проте через пролінову структуру каптоприлу може елююватися близько мертвого об'єму, що створює проблеми у проведенні кількісного визначення. Другою проблемою є схильність піка каптоприлу до деформації із хвостовим ефектом та давати несиметричний пік. Поведінка іонізованих аналітів у обернено-фазовій ВЕРХ та вплив типу буфера й інших добавок у рухомій фазі привертають увагу через їхнє значення для ефективної аналітичної розробки, де більшість аналітів є іонізованими [11]. За умов рухомої фази ACN–вода, PF_6^- проявляє найбільше утримування і є найліофільнішим іоном у серії Гоффмейстера. PF_6^- має найвищий ступінь делокалізації заряду та найвищу поляризованість, що полегшує його дисперсійні (або ван-дер-ваальсові) взаємодії. Нами апробовано KPF_6 як один з найсильніших хаотропів, проте буферний розчин рН 2.4 не дав змоги отримати відмінну хроматограму. Ми модифікували буферний розчин і додали 0.1 % $HClO_4$. Отже, склад нового апробованого буферного розчину – рН 2.10 (0.25 % KPF_6 , 0.1 % $HClO_4$, 0.1 % KH_2PO_4). Співвідношення ACN–буферний розчин 50-50 та 40-60 на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (150 × 4.6 мм 3.5 мкм) дали змогу отримати відмінне утримування каптоприлу, проте незадовільне розділення з супровідною домішкою каптоприлу дисульфиду, а співвідношенням 30-70 ACN–буферний розчин отримано відмінне розділення, проте число теоретичних тарілок (NTP) становило 1080 (рис. 1). В таблиці 1 представлено параметри придатності хроматографічної системи до рисунка 1. Оптимальною визначено довжину хвилі детектування 200 нм.

Ми продовжили подальші дослідження з апробації вищих температур 35 °C та 40 °C. На рисунку 2 представлено хроматограми, отримані на колонці Zorbax SB-C18 (150 × 4.6 мм 3.5 мкм) з рухомою фазою 30 % ACN та 70 % буферним розчином рН 2.10 (0.25 % KPF_6 , 0.1 % $HClO_4$, 0.1 % KH_2PO_4), температура колонки – 35 °C, детектування за довжини хвилі 200 нм. У таблиці 2 наведено параметри придатності хроматографічної системи до рисунка 2. Варто відмітити, що NTP зросло до 1679.

На рисунку 3 наведено хроматограми, отримані на колонці Zorbax SB-C18 (150 × 4.6 мм 3.5 мкм) з рухомою фазою 30 % ACN та 70 % буферним розчином рН 2.10 (0.25 % KPF_6 , 0.1 % $HClO_4$, 0.1 % KH_2PO_4), температура колонки – 40 °C, детектування за довжини хвилі 200 нм. У таблиці 3 наведено параметри придатності хроматографічної системи до рисунка 3. NTP зросло до 2596, що абсолютно задовольняє параметри придатності

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

хроматографічної системи. Апробовано також наявними хроматограмами на рисунку 4. Для по-
температури 36 °C та 38 °C, що засвідчено порів-
дальших досліджень обрано температуру 40 °C.

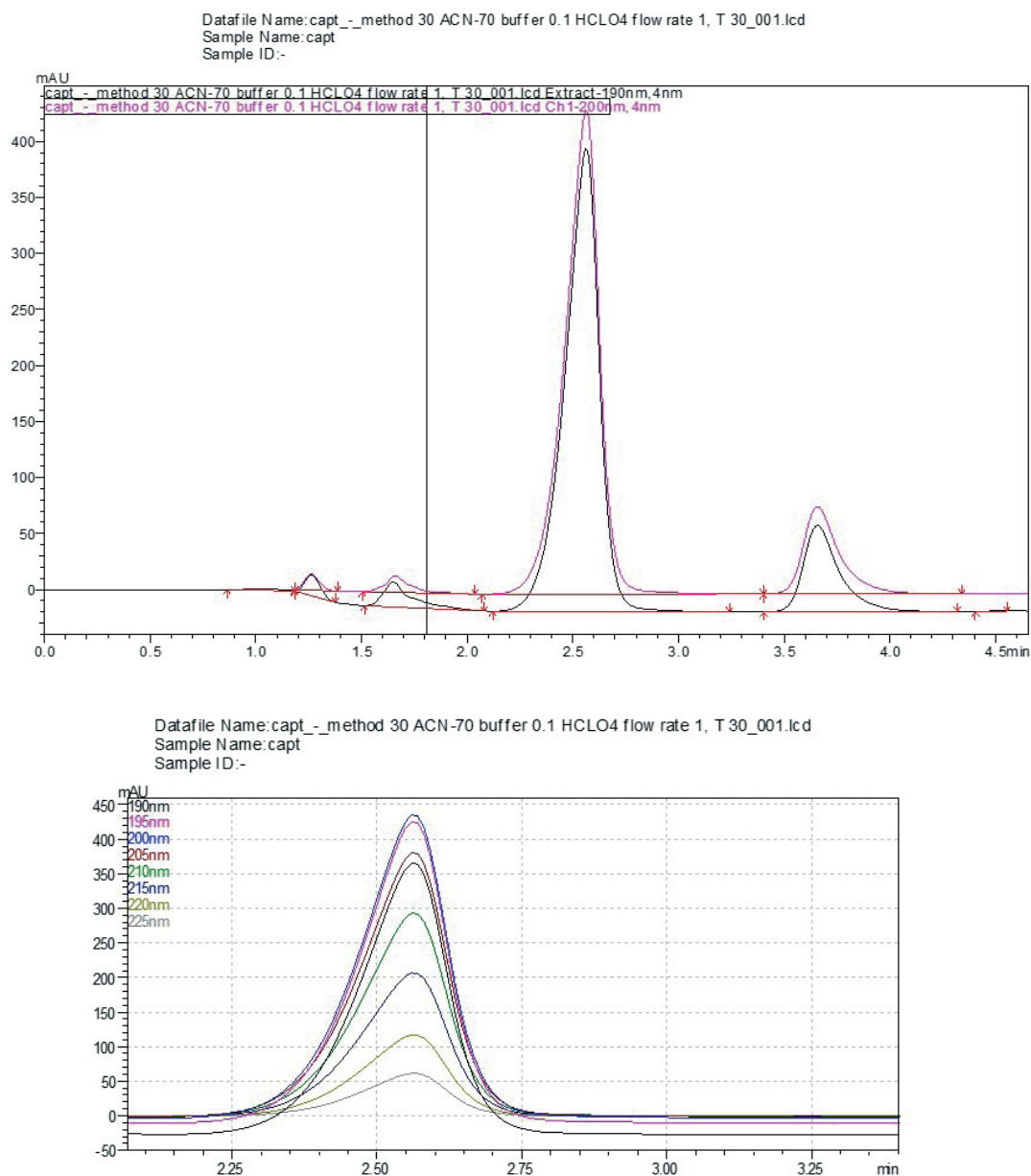


Рис. 1. Хроматограма розчину каптоприлу (1.0 мг/мл) на колонці Zorbax SB-C18 (150 × 4.6 мм 3.5 мкм) з 30 % ACN та 70 % буферним розчином рН 2.10 (0.25 % KPF6, 0.1 % HClO4, 0.1 % KH₂PO₄), температура колонки – 30° C, детектування за довжин хвиль 190 нм та 200 нм, швидкість потоку рухомої фази – 1.0 мл/хв.

Таблиця 1. Параметри придатності хроматографічної системи до рисунка 1

Пік	Час утримування, хв	Площа піка	Висота	Площа, %	Tailing F.	k'	Separation	NTP (USP)	HETP (USP)	Resolution (USP)
1	1.261	70493	14753	1.159	1.181	0.000	--	1160	129.311	--
2	1.659	119315	14759	1.962	1.587	0.315	0.000	1008	148.852	2.224
3	2.563	4963793	432127	81.631	0.804	1.032	3.279	1080	138.888	3.474
4	3.658	927150	78180	15.247	1.524	1.900	1.841	2317	64.729	3.554
Разом		6080751	539819	100.000						

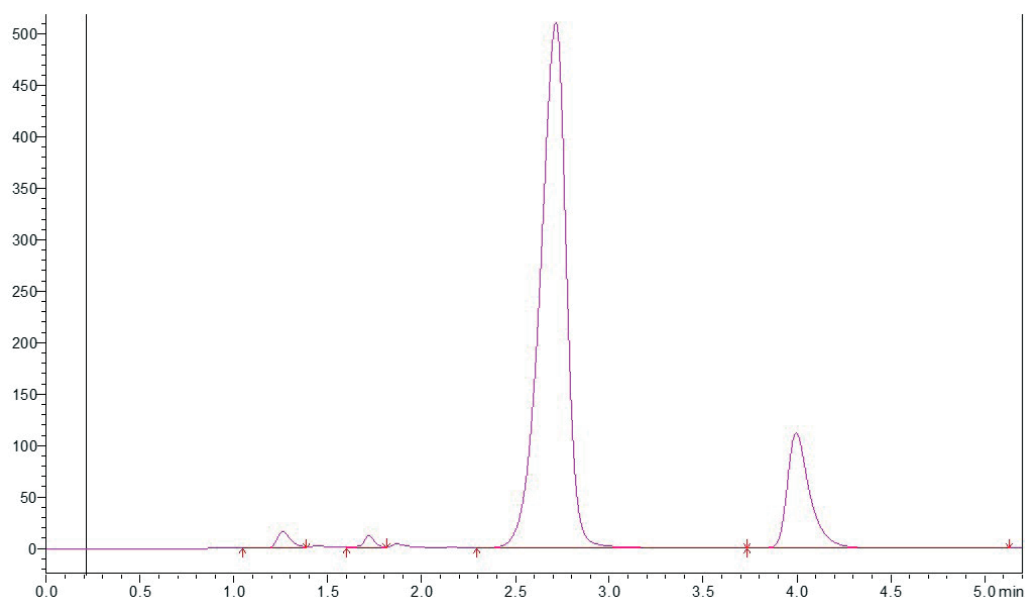


Рис. 2. Хроматограма розчину каптоприлу (1.0 мг/мл) на колонці Zorbax SB-C18 (150 x 4.6 мм 3.5 мкм) з 30 % ACN та 70 % буферним розчином pH 2.10 (0.25 % KPF₆, 0.1 % HClO₄, 0.1 % KH₂PO₄), температура колонки – 35 °C, детектування за довжини хвилі 200 нм, швидкість потоку рухомої фази – 1.0 мл/хв.

Таблиця 2. Параметри придатності хроматографічної системи до рисунка 2

Пік	Час утримування, хв	Площа піка	Висота	Площа, %	Tailing F.	k'	Separation	NTP (USP)	HETP (USP)	Resolution (USP)
1	1.260	86670	16385	1.433	--	0.000	--	1056	142.066	--
2	1.720	57651	12546	0.953	--	0.365	0.000	3162	47.439	3.312
3	2.715	4962544	510598	82.065	0.832	1.155	3.168	1679	89.361	5.141
4	3.996	940191	112043	15.548	1.519	2.171	1.880	4971	30.176	5.208
Разом		6047055	651573	100.000						

Datafile Name: capt_ _method 30 ACN-70 buffer 0.1 HClO4 flow rate 1.000 T 40_001.lcd
Sample Name: capt
Sample ID: -

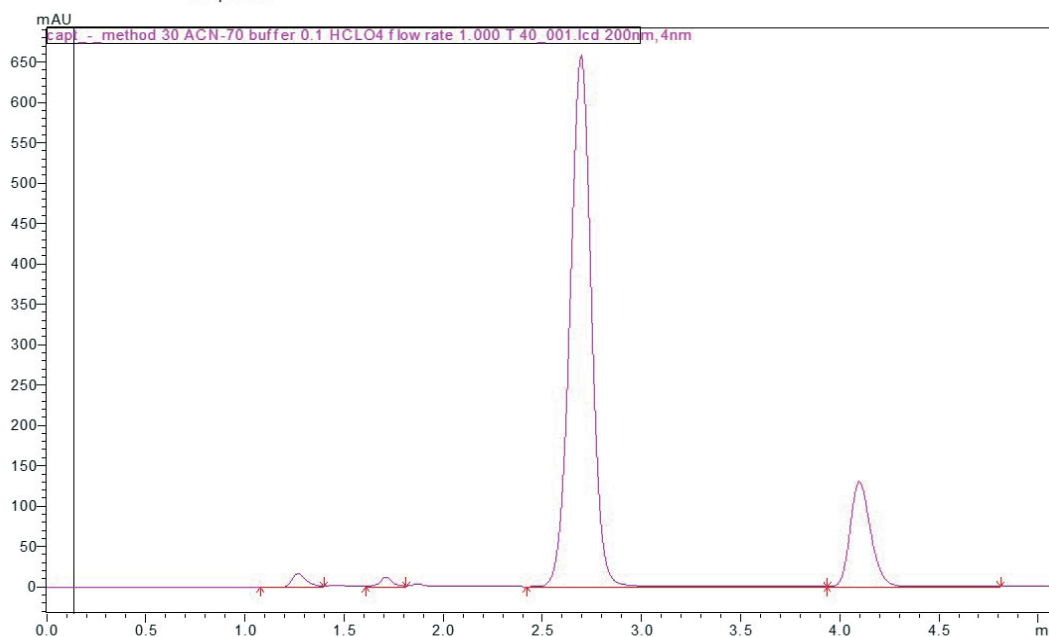


Рис. 3. Хроматограма розчину каптоприлу (1.0 мг/мл) на колонці Zorbax SB-C18 (150 x 4.6 мм 3.5 мкм) з 30 % ACN та 70 % буферним розчином pH 2.10 (0.25 % KPF₆, 0.1 % HClO₄, 0.1 % KH₂PO₄), температура колонки – 40 °C, детектування за довжини хвилі 200 нм, швидкість потоку рухомої фази – 1.0 мл/хв

Таблиця 3. Параметри придатності хроматографічної системи до рисунка 3

Пік	Час утримування, хв	Площа	Висота	Площа, %	Tailing F.	k'	Separation	NTP (USP)	HETP (USP)	Resolution (USP)
1	1.267	86587	16764	1.440	--	0.000	--	1153	130.115	--
2	1.710	57981	12454	0.964	--	0.349	0.000	3058	49.049	3.243
3	2.696	4928035	659037	81.945	0.981	1.127	3.226	2596	57.783	5.878
4	4.098	941194	130767	15.651	1.234	2.234	1.982	6403	23.425	6.736
Total		6013798	819022	100.000						

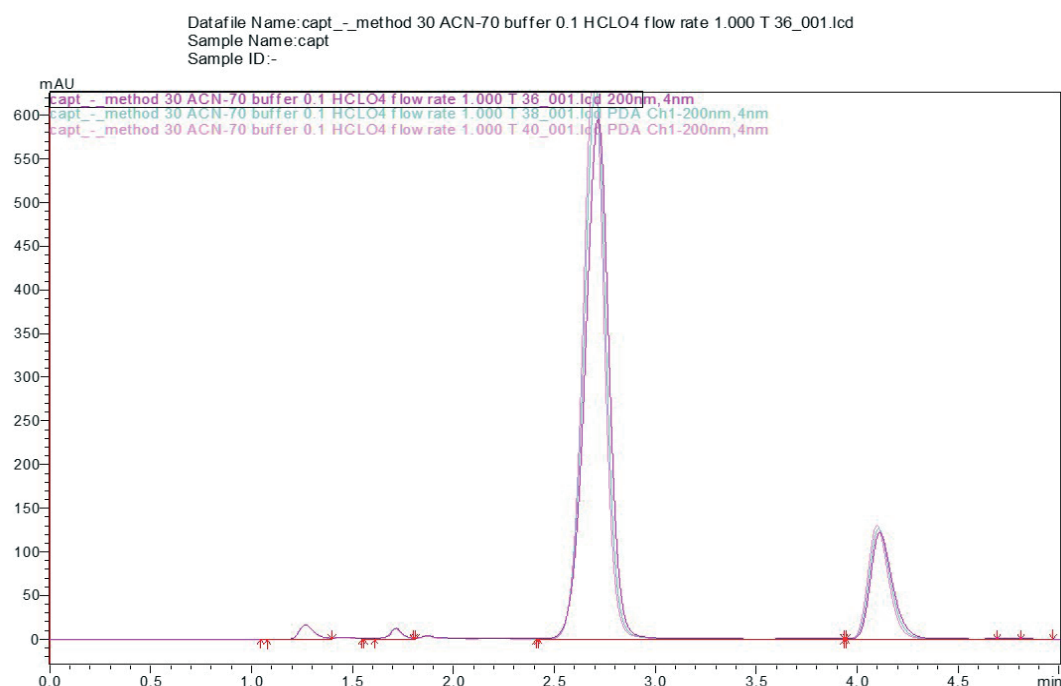


Рис. 4. Порівняльні хроматограми розчину каптоприлу (1.0 мг/мл) на колонці Zorbax SB-C18 (150 × 4.6 мм 3.5 мкм) з 30 % ACN та 70 % буферним розчином pH 2.10 (0.25 % KPF₆, 0.1 % HClO₄, 0.1 % KH₂PO₄), температура колонки – 36 °C, 38 °C та 40 °C, детектування за довжини хвилі 200 нм, швидкість потоку рухомої фази – 1.0 мл/хв.

Дослідження з вибору оптимальної швидкості потоку рухомої фази представлено на рисунку 5. Обрано використати швидкість потоку 1.0 мл/хв в як оптимальну для проведення експресного, зеленого та відтворюваного аналізу. Встановлено також, що швидкість потоку рухомої фази не впливає суттєво на результати аналізу.

У результаті проведених численних експериментальних досліджень встановлено оптимальні хроматографічні умови визначення каптоприлу в таблетках: хроматографічна колонка Zorbax SB-C18 (150 × 4.6 мм 3.5 мкм), рухома фаза – 30 % ACN та 70 % буферний розчин pH 2.10 (0.25 % KPF₆, 0.1 % HClO₄, 0.1 % KH₂PO₄), температура колонки – 40 °C, детектування за довжини хвилі 200 нм, швидкість потоку – 1.0 мл/хв, розчинник – рухома фаза. Типова хроматограма за вказаних умов представлена на рисунку 6. За оптимальних умов утримування каптоприлу ефективність розділення, форма піку та відтворюваність значно покращилися, порівняно з іншими опублікованими в

науковій літературі аналітичними методиками.

Валідацію аналітичної методики проводили за такими валідаційними характеристиками як робастність, лінійність, правильність та прецизійність [12]. Лінійність аналітичної методики вивчали в діапазоні 40–120 мкг/мл методом найменших квадратів та розраховували рівняння регресії ($y=12096x-45214$) з коефіцієнтом кореляції ($R^2=0.9998$). Хроматограми, отримані за умов вивчення лінійності аналітичної методики, наведено на рисунку 7. Розраховували рівняння регресії. Результати дослідження лінійності наведено на рисунку 8. Межа виявлення (МВ) становила 8.51 мкг/мл, межа кількісного визначення (МКВ) – 25.80 мкг/мл.

З метою дослідження правильності приготовлено модельні зразки з концентраціями АФІ каптоприлу в діапазоні 80–120 %. Результати вивчення правильності та прецизійності представлено в таблицях 4, 5. Одержані результати задовольняють критерії прийнятності.

Розроблену ВЕРХ методику застосовано для проведення кількісного визначення каптоприлу в таблетках «Каптоприл» 25 мг. Отримані результати у таблиці 6 вказують на те, що запропонована ВЕРХ методика визначення каптоприлу із застосуванням солей хаотропних аніонів у складі рухо-

мої фази може використовуватися для кількісного визначення каптоприлу в таблетках (рис. 6).

Використання нетоксичних розчинників, зменшення кількості ацетонітрилу до 30 у рухомій фазі, ізократичне елюювання, час хроматографування до 4 хв, мінімізація пробопідготовки

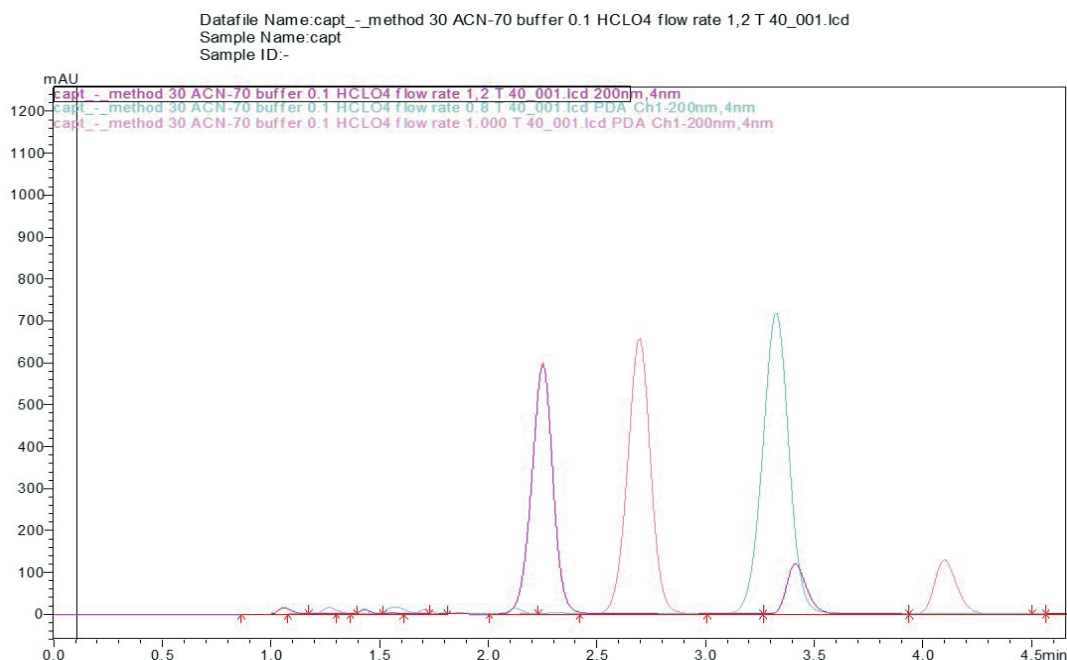


Рис. 5. Порівняльні хроматограми розчину каптоприлу (1.0 мг/мл) на колонці Zorbax SB-C18 (150 × 4.6 мм 3.5 мкм) з 30 % ACN та 70 % буферним розчином pH 2.10 (0.25 % KPF₆, 0.1 % HClO₄, 0.1 % KH₂PO₄), температура колонки – 40 °C, детектування за довжини хвилі 200 нм, швидкість потоку рухомої фази – 0.8 мл/хв, 1.0 мл/хв та 1.2 мл/хв.

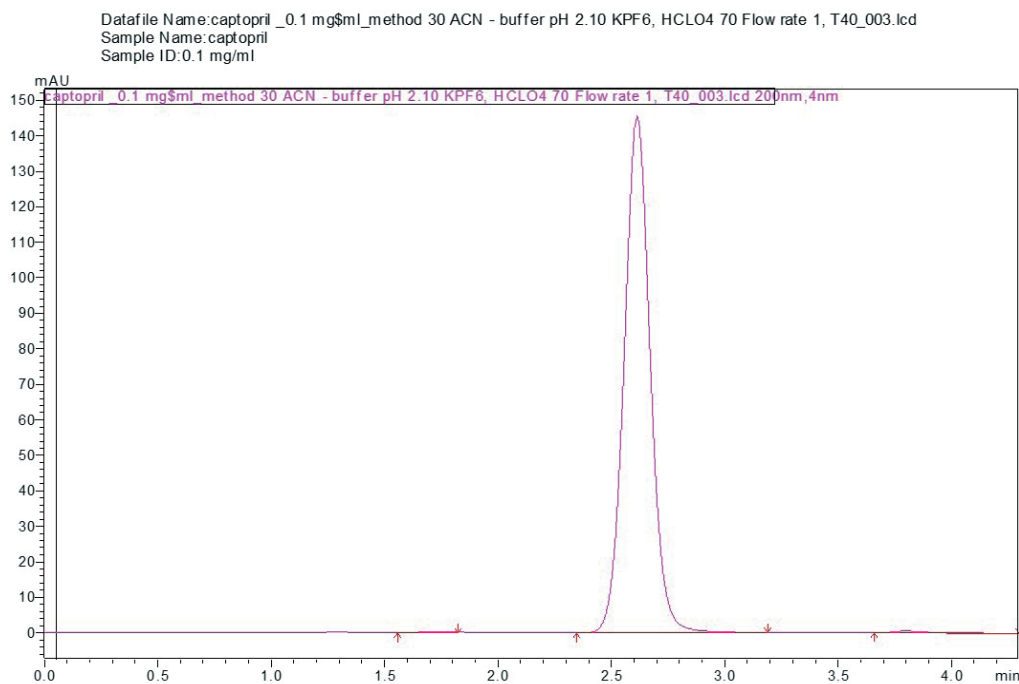


Рис. 6. Типова хроматограма розчину каптоприлу (0.1 мг/мл), отримана за оптимальних хроматографічних умов на колонці Zorbax SB-C18 (150 × 4.6 мм 3.5 мкм) з 30 % ACN та 70 % буферним розчином pH 2.10 (0.25 % KPF₆, 0.1 % HClO₄, 0.1 % KH₂PO₄), температура колонки – 40 °C, детектування за довжини хвилі 200 нм, швидкість потоку рухомої фази – 1.0 мл/хв.

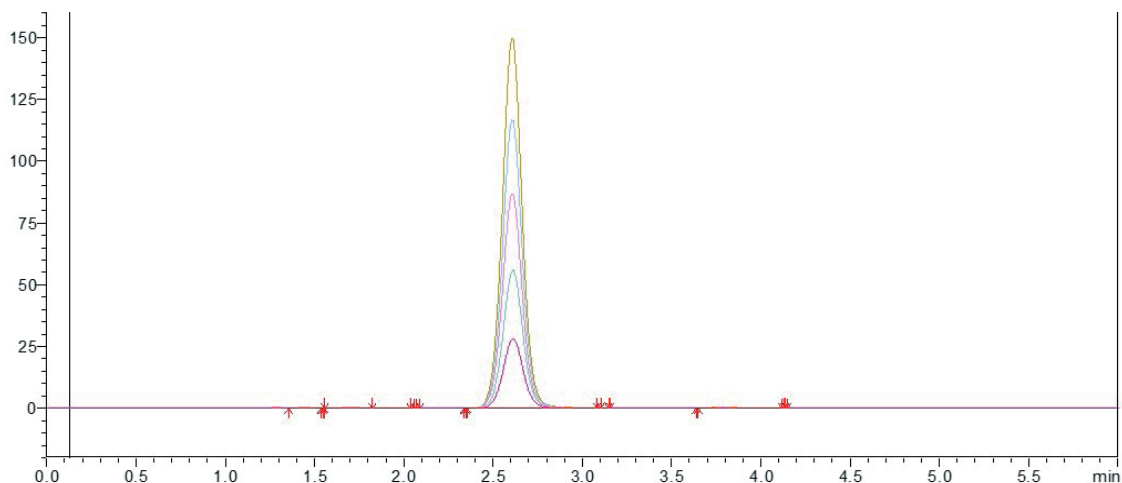


Рис. 7. Хроматограми, отримані за умов вивчення лінійності аналітичної методики.

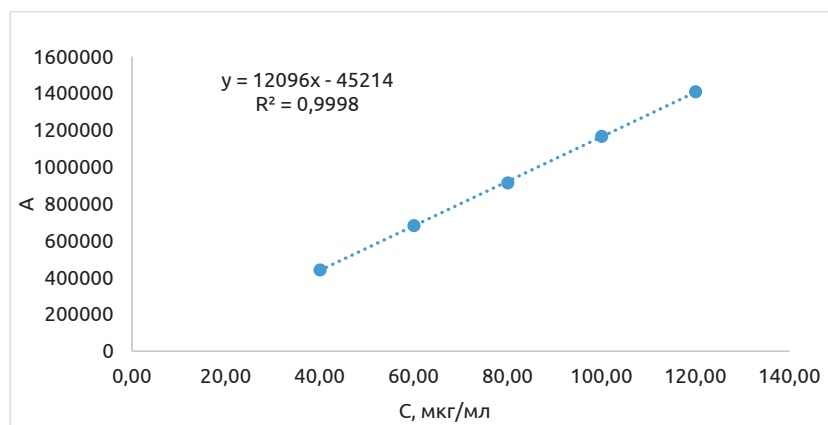


Рис. 8. Графік залежності площі піку від концентрації розчинів каптоприлу.

Таблиця 4. Результати дослідження правильності ВЕРХ методики

Моделльні розчини	Вміст каптоприлу, %		Відношення знайденого до введеного, $Z_i = (Y_i/X_i) \cdot 100\%$
	введено, $X_i = (C_i/C_{rs}) \cdot 100\%$	знайдено, $Y_i = (A_i/A_{rs}) \cdot 100\%$	
M ₁	80.07	80.45	100.47
M ₂	79.82	80.32	100.62
M ₃	80.45	79.90	99.32
M ₄	100.11	100.55	100.44
M ₅	100.05	100.31	100.26
M ₆	99.87	100.11	100.24
M ₇	120.82	120.59	99.81
M ₈	120.05	120.42	100.31
M ₉	120.22	120.49	100.22
Середнє значення, Z, %			100.19
Стандартне відхилення, S _z , %			0.48
Відносний довірчий інтервал $\Delta z = t(95\%, 8) \cdot S_z = 2.3060 S_z, \%$			1.11
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta z \leq \max \Delta_{As} = 2.4\%$			Виконується (1.11 < 2.4)
Систематична похибка $\delta = Z - 100 , \%$			0.19
Критерій невизначеності систематичної похибки $\delta \leq \max \delta\%$			Виконується (0.19 < 0.51)
Коректна			Загальний висновок про методику

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

дали можливість провести зелений аналіз, що засвідчено результатами вивчення зеленості аналітичної методики метриками AGREE (бал 0.72), MoGAPI (бал 81), Complex MoGAPI (бал 81), AGSA (бал 73.61), CaFRI (бал 74) та CACI (бал 82) (рис. 9) [13–18].

Таблиця 5. Результати дослідження прецизійності ВЕРХ методики

№ розчину	Величина Z_i , %		
	1 дослід	2 дослід	3 дослід
1	100.44	99.88	100.18
2	99.85	100.46	99.90
3	100.20	100.20	100.58
4	100.52	100.11	100.10
5	100.05	99.79	100.27
6	99.99	100.24	99.79
Середнє Z , %	100.18	100.11	100.14
RSD_{x_i} , %	0.26	0.25	0.28
Відносне стандартне відхилення, RSD_Z , %	0.26		
Відносний довірчий інтервал, Δ_Z	0.26 $\leq$ 2.4		
Критичне значення збіжності результатів Δ_{As} , %	2.4		

Таблиця 6. Результати кількісного визначення каптоприлу в таблетках

Лікарський засіб	Знайдено, г	Метрологічні характеристики
Таблетки «Каптоприл» 25 мг	0,0250 0,0249 0,0251 0,0253 0,0249 0,0252	$\bar{m} = 0,0251$ г $S = 1,63 \times 10^{-4}$ $t = 2,57$ $\Delta x = 1,71 \times 10^{-4}$ $RDS = 0,65$ $\varepsilon = 0,68$ %

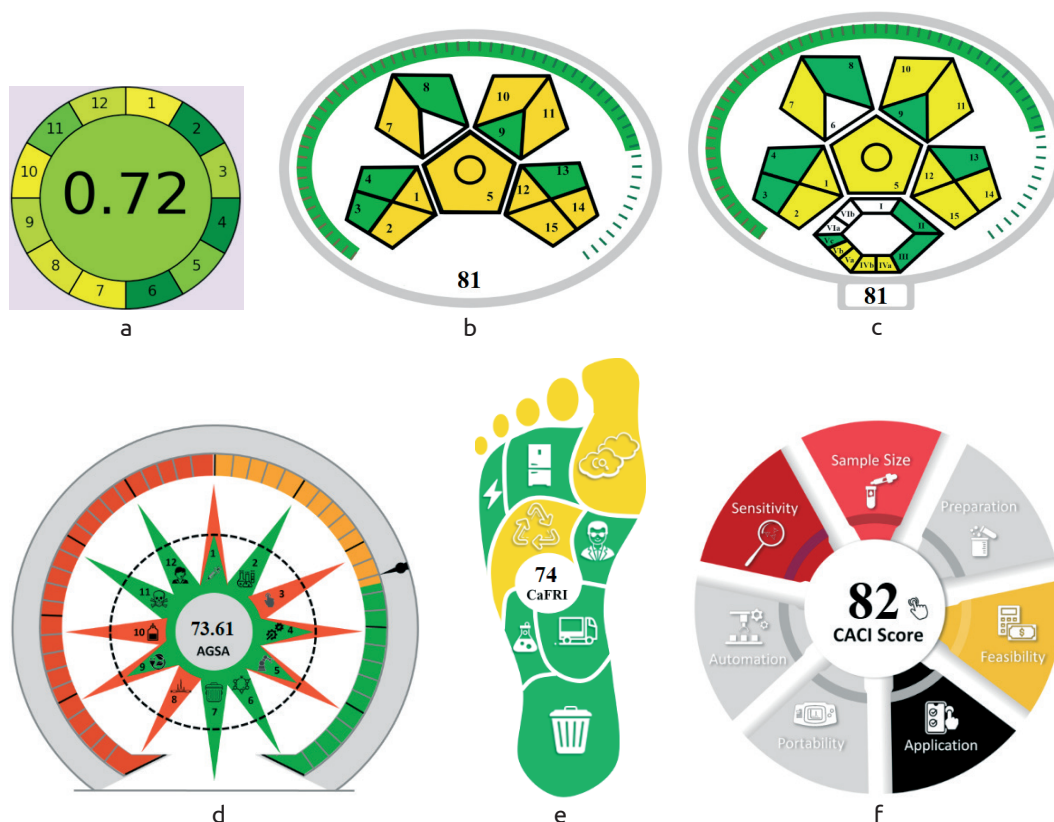


Рис. 9. Результати вивчення зеленості розробленої аналітичної методики визначення каптоприлу метриками AGREE (A), MoGAPI (B), Complex MoGAPI (C), AGSA (D), CaFRI (E) та CACI (F).

Висновки. Розроблено експресну, просту та зелену ВЕРХ методику визначення каптоприлу в таблетках з використанням солей хаотропних аніонів. Запропонована ВЕРХ методика дає змогу провести кількісне визначення каптоприлу в таблетках з отриманням симетричного піку, який не елююється близько мертвого об'єму. Окрім того, розроблена ВЕРХ методика може бути використана для аналізу супровідних домішок. Проведено валідацію аналітичної методики. ВЕРХ методика була лінійною в діапазоні концентрацій 40–120 мкг/мл. Метриками вивчення зеленості AGREE, MoGAPI, Complex MoGAPI, AGSA, CaFRI та CACI по-

казано, що запропонована аналітична методика з використанням солей хаотропних аніонів у складі рухомої фази є екологічно безпечною.

Джерела фінансування. Власні кошти авторів.

Внесок авторів:

М. І. Дручок – виконання дослідження, проведення статистичної обробки результатів, написання статті;

Л. С. Логойда – розробка ідеї та дизайну дослідження, формулювання висновків, коректування статті.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

ЛІТЕРАТУРА

1. PubChem – National Library of Medicine. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/> Accessed on 31 May 2025.
2. Державна фармакопея України: в 3 т. 2-е вид. Харків: Державне підприємство «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2014. Т. 2. 724 с.
3. Державна фармакопея України: в 3 т. 2-е вид. Харків: Державне підприємство «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2014. Т. 3. 732 с.
4. Jebaslinhepzybai B., Velmurugan C., Chenthilnathan A. Validation of the RP-HPLC method for analysis of captopril in pharmaceutical tablets. *Der Pharmacia Sinica*. 2016. Vol. 7, No. 4. P. 1–6.
5. Leanpolchareanchai J., Suksiriworapong J. Validation of analytical method for captopril extemporaneous preparations by high performance liquid chromatography. *MU J. Pharm. Sci.* 2015. Vol. 42, No. 2. P. 85–92.
6. Sultan N., Naveed S., Arayne M. S. RP-HPLC Method for the simultaneous determination of captopril and H₂-receptor antagonist: Application to interaction studies. *Med. Chem.* 2013. Vol. 3. P. 183–187.
7. Simultaneous determination of captopril and hydrochlorothiazide in human plasma by reverse-phase HPLC from linear gradient elution / T. Huang et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2006. Vol. 41, № 2. P. 644–648.
8. Papanov S., Hadjieva B., Koleva N. Rapid RP-HPLC method for estimation of captopril from tablet dosage form. *IJBPA*. 2014. Vol. 3, No. 3. P. 317–325.
9. Sultana N., Arayne M. S., Naveed S. Simultaneous quantitation of captopril and NSAID's in API, dosage formulations and human serum by RP-HPLC. *J. Chin. Chem. Soc.* 2010. Vol. 57, No. 1. P. 62–67.
10. Development of methodology for identification of captopril in medicines / L. Logoyda, D. Korobko, O. Samohalska, I. Berdey, T. Kuchmerovska. *Asian Journal of Pharmaceuticals*. 2016. Vol. 10, No. 3. P. 168–171.
11. Kazakevich Y. V., Lobrutto R. *HPLC for pharmaceutical scientists*. John Wiley & Sons. 2006.
12. ICH Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2 (R2), Geneva. 2023. ICH_Q2(R2)_Guideline_2023_1130.pdf (accessed on 24 June 2025).
13. Pena-Pereira F., Wojnowski W., Tobiszewski M. AGREE - Analytical GREENness metric approach and software. *Analytical chemistry*. 2020. Vol. 92, No. 14. P. 10076-10082.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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. 100164.

REFERENCES

1. PubChem – National Library of Medicine. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/> Accessed on 31 May 2025
2. Derzhavna farmakopeya Ukrayiny: v 3 t. 2-e vyd. [State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 volumes, 2nd edition]. Kharkiv: State Enterprise "Ukrainian Scientific and Expert Pharmacopoeial Center for the Quality of Medicinal Products", 2014; 2: 724. Ukrainian
3. Derzhavna farmakopeya Ukrayiny: v 3 t. 2-e vyd. [State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 volumes, 2nd edition]. Kharkiv: State Enterprise "Ukrainian Scientific and Expert Pharmacopoeial Center for the Quality of Medicinal Products", 2014; 3: 724. Ukrainian
4. Jebaslinhepybai B, Velmurugan C, Chenthilnathan A. Validation of the RP-HPLC method for analysis of captopril in pharmaceutical tablets. *Der Pharmacia Sinica*. 2016;7(4):1–6.
5. Leanpolchareanchai J, Suksiriworapong J. Validation of analytical method for captopril extemporaneous preparations by high performance liquid chromatography. *MU J. Pharm. Sci.* 2015;42(2):85–92. DOI: 10.14456/mujps.2015.11
6. Sultan N, Naveed S, Arayne MS. RP-HPLC Method for the simultaneous determination of captopril and H₂-receptor antagonist: Application to interaction studies. *Med. Chem.* 2013;3:183–187. DOI: 10.4172/2161-0444.1000136
7. Huang T et al. Simultaneous determination of captopril and hydrochlorothiazide in human plasma by reverse-phase HPLC from linear gradient elution. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2006;41(2):644–648. DOI: 10.1016/j.jpba.2005.12.007
8. Papanov S, Hadjieva B, Koleva N. Rapid RP-HPLC method for estimation of captopril from tablet dosage form. *IJBPAS*. 2014;3(3):317–325.
9. Sultana N, Arayne MS, Naveed S. Simultaneous quantitation of captopril and NSAID's in API, dosage formulations and human serum by RP-HPLC. *J. Chin. Chem. Soc.* 2010;57(1):62–67.
10. Logoyda L, Korobko D, Samohalska O, Berdey I, Kuchmerovska T. Development of methodology for identification of captopril in medicines. *Asian Journal of Pharmaceuticals*. 2016;10(3):168–171.
11. Kazakevich YV, Lobrutto R. HPLC for pharmaceutical scientists. John Wiley & Sons. 2006.
12. ICH Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2 (R2), Geneva. 2023. Available from https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q2%28R2%29_Guideline_2023_1130.pdf
13. Pena-Pereira F, Wojnowski W, Tobiszewski M. AGREE—Analytical GREEnness metric approach and software. *Analytical chemistry*. 2020;92(14):10076–10082. DOI: 10.1021/acs.analchem.0c01887
14. Mansour FR, Plotka-Wasyłka J, Locatelli M. Modified GAPI (MoGAPI) tool and software for the assessment of method greenness: case studies and applications. *Analytica*. 2024;5(3):451–457. DOI: 10.3390/analytica5030030
15. Mansour FR, Omer KM, Plotka-Wasyłka J. A total scoring system and software for complex modified GAPI (ComplexMoGAPI) application in the assessment of method greenness. *Green Analytical Chemistry*. 2024;10:100126. DOI: 10.1016/j.greeac.2024.100126
16. Mansour FR, 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;46:102051. DOI: 10.1016/j.scp.2025.102051
17. Mansour FR, Nowak, P. M. Introducing the carbon footprint reduction index (CaFRI) as a software-supported tool for greener laboratories in chemical analysis. *BMC chemistry*. 2025;19(1):121. DOI: 10.1186/s13065-025-01486-2
18. Mansour FR, 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;14:100164. DOI: 10.1016/j.sampre.2025.100164

M. I. Druchok, L. S. Logoyda

Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, Ukraine

DEVELOPMENT OF THE HPLC METHOD FOR THE DETERMINATION OF CAPTOPRIL IN TABLETS USING SALTS OF CHAOTROPIC ANIONS

SUMMARY. Analysis of captopril using reversed-phase liquid chromatography is not a complicated task; however, due to the proline structure, captopril may elute near the dead volume, which creates challenges in performing quantitative determination. The second problem is the tendency of the captopril peak to deform with tailing and to produce an asymmetrical peak. In our work, we propose the use of chaotropic anion salts in the mobile phase on a C18 column as a promising approach to effective analytical development, which will allow improving the retention and peak shape of captopril.

The aim – to develop a rapid, simple, and green HPLC method for determining captopril in tablets using salts of chaotropic anions.

Material and Methods. In our work, we used a Shimadzu LC-2050 C Agilent 1260 liquid chromatograph with a diode-array detector (Japan), LabSolutions software, and a Zorbax SB-C18 chromatographic column (150 × 4.6 mm, 3.5 μm). Captopril standard substance (purity ≥99 %, HPLC) was purchased from Sigma-Aldrich Chemicals Co., and Captopril tablets (25 mg) were from PJSC Kyivmedpreparat, ARTERIUM.

Results. Under the conditions of the mobile phase ACN–water, PF_6^- exhibits the highest retention and is the most lipophilic ion in the Hofmeister series. PF_6^- has the highest degree of charge delocalization and the highest polarizability, which facilitates its dispersion (or van der Waals) interactions. As a result of numerous experimental studies, the optimal chromatographic conditions for determining captopril in tablets have been established: chromatographic column Zorbax SB-C18 (150 x 4.6 mm, 3.5 μm), mobile phase – 30 % ACN and 70 % buffer solution pH 2.10 (0.25 % KPF_6 , 0.1 % HClO_4 , 0.1 % KH_2PO_4), column temperature – 40 °C, detection at a wavelength of 200 nm, flow rate – 1.0 ml/min, solvent – mobile phase. The linearity of the analytical method was studied in the range of 40–120 $\mu\text{g/mL}$ using the least squares method, and the regression equation ($y=12096x-45214$) was calculated with a correlation coefficient ($R^2=0.9998$). The limit of detection (LOD) was 8.51 $\mu\text{g/mL}$, and the limit of quantification (LOQ) was 25.80 $\mu\text{g/mL}$. Using the most advanced tools for studying greenery–AGREE (score 0.72), MoGAPI (score 81), Complex MoGAPI (score 81), AGSA (score 73.61), CaFRI (score 74), and CACI (score 82)—it has been determined that the proposed HPLC method is ecologically safe.

Conclusions. A rapid, simple, and green HPLC method for the determination of captopril in tablets using salts of chaotropic anions has been developed. The proposed HPLC method allows for the quantitative determination of captopril in tablets, obtaining a symmetrical peak that does not elute near the dead volume. In addition, the developed HPLC method can be used for the analysis of related impurities.

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

Отримано 23.09.2025

Електронна адреса для листування: druchok_maiv@tdmu.edu.ua