

## РАЗРАБОТКА ПОЛУПРЕПАРАТИВНОГО СПОСОБА ХИРАЛЬНОГО РАЗДЕЛЕНИЯ РАЦЕМИЧЕСКИХ СМЕСЕЙ ИБУПРОФЕНА И КЕТОПРОФЕНА МЕТОДОМ СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ФЛЮИДНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

**М.И. Чуркин** — Институт химии и химико-фармацевтических технологий, ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», Барнаул, Россия. ORCID: 0000-0001-5095-1152. Эл. почта: mad\_max99@icloud.com (для переписки)

**Н.Г. Базарнова** — Институт химии и химико-фармацевтических технологий, ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», Барнаул, Россия. ORCID: 0000-0002-4539-2744. Эл. почта: bazarnova@chem.asu.ru

© 2025 г. Поступила в редакцию 03.06.2025 г. Прошла рецензирование 27.08.2025 г.  
Принята к публикации 27.08.2025 г.

Разработаны высокоэффективные аналитические методики разделения рацемических смесей ибупрофена и кетопрофена с применением сверхкритической флюидной хроматографии (СФХ). В качестве подвижной фазы использовали сверхкритический диоксид углерода (СК-СО<sub>2</sub>) в сочетании с соразстворителем, в роли неподвижной фазы — хиральный сорбент на основе амилозы. Достигнуты оптимальные значения степени разделения и селективности для каждой из пар энантиомеров как в изократическом режиме, так и в градиентном. Выявлено, что эффективность разделения существенно зависит от содержания соразстворителя в подвижной фазе. Оценена возможность масштабирования разработанных способов для осуществления полупрепаративного анализа.

**Ключевые слова:** сверхкритическая флюидная хроматография, энантиомеры, хиральное разделение, полупрепаративные методики разделения, аналитические методики разделения, ибупрофен, кетопрофен.

### ВВЕДЕНИЕ

Большое количество фармацевтических субстанций представляет собой смесь энантиомеров; при этом только один обладает необходимой физиологической активностью, второй — либо балласт, либо проявляет негативные побочные эффекты. Использование энантиомерно чистых субстанций для производства фармпрепаратов позволяет уменьшить их дозировку и исключить риск возникновения побочных эффектов от антиподов, проявляющих негативное воздействие.

Существуют различные методы для достижения энантиомерной чистоты: перекристаллизация, ферментативные и химические способы очистки, хроматография [1]. При этом использование хроматографии возможно в промышленных масштабах с наименьшими затратами, по сравнению с другими методами. Особое внимание стоит уделить сверхкритической флюидной хроматографии (СФХ), которая, в отличие от высокоэффективной жидкостной (ВЭЖХ) и газовой хроматографии (ГХ), является более эффективным, экономичным и экологически чистым методом [2]. Кроме того, в Государственную

фармакопею РФ XIV изд. в Т. I включена ОФС. 1.2.1.2.0006.15 «Сверхкритическая флюидная хроматография» [3]. Поэтому необходимо разрабатывать аналитические и, в особенности, полупрепаративные методики СФХ разделения и анализа, в частности, для фармсубстанций, представленных в виде рацемических смесей.

В медицинской практике довольно часто используют такие нестероидные фармацевтические препараты из группы производных пропионовой кислоты, как ибупрофен и кетопрофен, которые являются рацемическими смесями. Лекарственные препараты на основе ибупрофена производят из рацемической смеси, однако (S)-энантиомер оказывает терапевтический эффект, (R)-изомер не проявляет активности, а в некоторых случаях вызывает побочные действия [4]. Препараты на основе кетопрофена также содержат рацемическую смесь, где (S)-энантиомер оказывает терапевтический эффект, (R)-изомер проявляет побочные действия [5]. Оптически чистые энантиомеры данных субстанций можно получить дорогостоящими методами: асимметрический синтез, капиллярный электрофорез и другие, которые невозможно масштабировать для промышленного производства. Поиск приемлемых способов хиральной очистки субстанций с применением их в производстве остается актуальным.

Камило и др. [6] исследовали разделение кетопрофена, напроксена, ибупрофена и флурбипрофена методом ВЭЖХ с использованием хиральных колонок разной длины на основе силикагеля с привитыми полимерами амилозы трис(3,5-диметилфенилкарбамата), но продолжительность эксперимента была довольно большой. Например, для успешного разделения энантиомеров ибупрофена потребовалось более 10 мин. Рацемическую смесь кетопрофена разделить не удалось.

Разделение ибупрофена с применением метода СФХ уже проводилось зарубежными учеными, однако исключительно в аналитических масштабах. Например, Йоханнсен и др. [7] достигли разделения за 8 мин; степень разделения  $R_S = 4,4$ , селективность  $\alpha = 1,37$ . Кот и др. [8] при разделении получили для ибупрофена  $R_S = 3,5$  и  $\alpha = 1,26$ , для кетопрофена —  $R_S = 1,8$  и  $\alpha = 1,09$ . Их времена удерживания по сравнению с ВЭЖХ сократились практически в три раза и составили примерно 6 мин для ибупрофена и 16 мин для кетопрофена, что свидетельствует о несомненной эффективности СФХ. Ли и др. [9] масштабировали разработанную аналитическую методику до препаративного анализа. Достигнуты высокие степени хиральной чистоты за относительно небольшой промежуток времени (время анализа составило 5 мин) единичного анализа: 95,1 % для R-изомера, 99,3 % для S-изомера. Однако в состав подвижной фазы в качестве динамического модификатора был добавлен моноизопропиламин, использование которого в случае промышленного производства может не только значительно повысить стоимость процесса, но и увеличить сложность очистки целевой субстанции от растворителя. Новаковой и др. [10] удалось добиться разделения энантиомеров кетопрофена СФХ в течение 10 мин при степени разделения ( $R_S = 2,25$ ). Медведовичи и др. [11] удалось добиться разделения энантиомеров кетопрофена в течение 10 мин при степени разделения ( $R_S = 1,1$ ).

Таким образом, несмотря на то, что исследования разделения рацемических смесей ибупрофена и кетопрофена методом СФХ уже проводились зарубежными учеными, наше исследование будет отличаться новизной, поскольку разработанные способы будут иметь полупрепаративный характер, а также

будут экономически выгоднее представленной препаративной методики. Полупрепаративный анализ позволит нарабатывать энантиомерно чистые субстанции в количестве, достаточном не только для характеристики их физико-химических свойств, но и для проведения доклинических исследований.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследование проводили на полупрепаративном сверхкритическом флюидном хроматографе Investigator (Thar, Waters Corp.). В исследовании применяли следующий состав подвижной фазы: сверхкритический диоксид углерода и метанол (или изопропанол), используемый в качестве соразтворителя. В результате литературного поиска и анализа структурных особенностей ибупрофена, изначально в качестве сорбента для метода СФХ был выбран силикагель, модифицированный хиральным селектором на основе иммобилизованной трис(3,5-диметилфенилкарбамат) амилозы (IA) ChiralPak IA (250×4,6; 5 мкм). В качестве начальных условий использовали параметры, приведенные в работе [8]. В результате степень разделения энантиомеров ибупрофена составила  $R_S = 0,60$ ; селективность  $\alpha = 1,05$ . Воспроизводимости методики не наблюдается, что говорит о невозможности валидации способа, предложенного зарубежными коллегами.

Модификацией хроматографических условий удалось добиться большей степени разделения энантиомеров ибупрофена: давление — 12 МПа, температура — 30 °С, скорость потока — 3 мл/мин, содержание соразтворителя метанола — 4 %. Детектирование сигналов проводили при  $\lambda = 225$  нм. Время анализа может составлять 5 мин, времена удерживания энантиомеров 3,63 и 3,84 мин соответственно. Коэффициенты удерживания:  $k_1 = 1,91$ ;  $k_2 = 2,07$ . Степень разделения составила  $R_S = 1,34$ ; селективность  $\alpha = 1,06$ .

При использовании изопропанола в качестве соразтворителя (скорость потока 4 мл/мин, содержание соразтворителя в подвижной фазе 4 %) наблюдается ухудшение разделения рацемической смеси ибупрофена: время анализа составило 7 мин ( $R_S = 1,07$ ;  $\alpha = 1,08$ ), времена удерживания энантиомеров 5,12 и 5,45 мин соответственно.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее оптимальное разделение рацемической смеси ибупрофена достигнуто на силикагелевом сорбенте, модифицированном хиральным селектором на основе иммобилизованной трис(3-хлор-5-метилфенилкарбамата) амилозы, (IG) ChiralPak IG (150×6; 5 мкм). В ходе серии экспериментов найдены оптимальные условия: давление — 12 МПа, температура — 30 °С, скорость потока — 4 мл/мин, содержание соразтворителя метанола — 3 % (рис. 1 на цв. вкладке).

При оптимальных условиях хроматографирования рацемической смеси ибупрофена время анализа может составлять 5,5 мин, времена удерживания энантиомеров 3,48 и 4,22 мин соответственно. Коэффициенты удерживания:  $k_1 = 4,35$ ;  $k_2 = 5,49$ . Степень разделения  $R_S = 2,62$ ; селективность  $\alpha = 1,21$ . В сочетании сорбента ChiralPak IG и соразтворителя изопропанола хиральное разделение ибупрофена методом СФХ не наблюдается.

Поскольку кетопрофен, как и ибупрофен, является производным пропионовой кислоты, данные субстанции имеют сходное строение, аналогичный

Вкладка к статье М.И. Чуркина, Н.Г. Базарновой «Разработка полупрепаративного способа хирального разделения рацемических смесей ибупрофена и кетопрофена методом сверхкритической флюидной хроматографии»

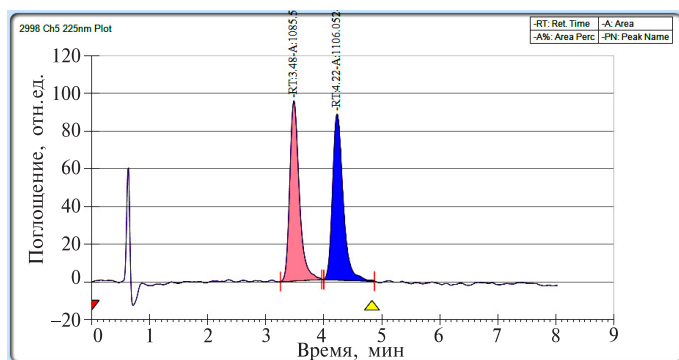


Рис. 1. Хроматограмма разделения рацемической смеси ибупрофена при оптимальных условиях СФХ-анализа в сочетании сорбента ChiralPak IG и соразворителя метанола

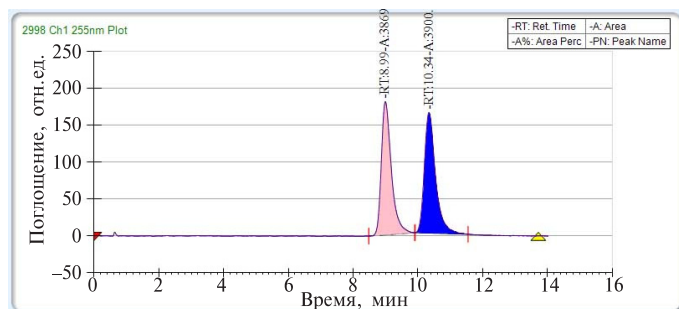


Рис. 2. Хроматограмма разделения рацемической смеси кетопрофена при оптимальных условиях СФХ-анализа

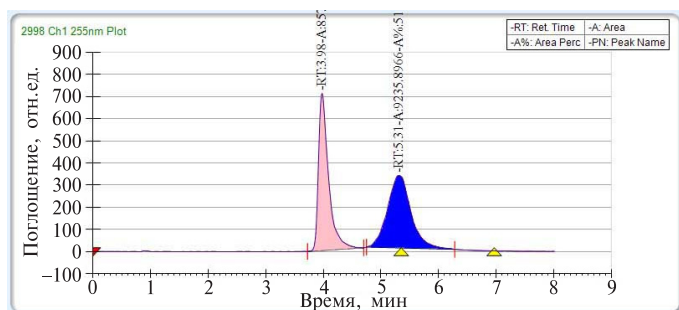


Рис. 3. Хроматограмма разделения рацемической смеси кетопрофена в условиях градиентного изменения содержания соразворителя в подвижной фазе

хиральный атом углерода, поэтому для разделения рацемической смеси кетопрофена методом СФХ применяли тот же сорбент и тот же состав подвижной фазы, что и для оптимального разделения рацемической смеси ибупрофена.

Оптимальные условия разделения рацемической смеси кетопрофена: давление — 12 МПа, температура — 30 °С, скорость потока — 4 мл/мин, содержание соразтворителя метанола — 6 %. Время анализа может составлять 12 мин, времена удерживания энантиомеров 8,99 и 10,34 мин соответственно (рис. 2, цв. вкладка). Коэффициенты удерживания:  $k_1 = 12,83$ ;  $k_2 = 14,91$ . Степень разделения  $R_S = 2,48$ ; селективность  $\alpha = 1,15$ .

В результате изучения влияния различных факторов на разделение рацемических смесей ибупрофена и кетопрофена выявлено, что наибольшее влияние на изменение хроматографических параметров оказывает содержание соразтворителя в подвижной фазе. Поэтому был проведен поиск оптимальных условий градиентного режима анализа рацемической смеси кетопрофена с целью сокращения времен удерживания при сохранении аналогичных значений степени разделения и селективности путем изменения процента соразтворителя в ходе анализа. После проведения серии экспериментов достигнуто значительное увеличение эффективности методики при сравнении с оптимальными условиями в изократическом режиме. Условия: сорбент — ChiralPak IG (150×4,6; 5 мкм); подвижная фаза: сверхкритический диоксид углерода и метанол (соразтворитель); давление — 12 МПа; температура — 30 °С; скорость потока — 4 мл/мин; содержание соразтворителя — градиентный режим (таблица).

Время анализа может составлять 7 мин, времена удерживания энантиомеров 3,98 и 5,31 мин соответственно (рис. 3, цв. вкладка). Степень разделения  $R_S = 2,73$ ; селективность  $\alpha = 1,34$ . Градиентный режим анализа рацемической смеси кетопрофена позволил достигнуть существенного сокращения времен удерживания, увеличения степени разделения и селективности по сравнению с оптимальными условиями в изократическом режиме. Применение разработанного способа с использованием градиентного изменения содержания соразтворителя в подвижной фазе существенно увеличит эффективность методики при масштабировании до полупрепаративного анализа. Однако, форма второго пика не является оптимальной. Поэтому в дальнейшем необходимо провести модификацию найденных условий с целью придания второму пику формы, близкой к гауссовой.

Таблица

**Хроматографические условия градиентного режима анализа рацемической смеси кетопрофена методом СФХ**

Номер этапа	Изменение содержания метанола в подвижной фазе, %	Продолжительность этапа, мин
1	10—10	2 мин
2	10—4	0,5 мин
3	4—4	1 мин
4	4—10	0,5 мин
5	10—10	3 мин

Таким образом, разработаны высокоэффективные аналитические методики разделения рацемических смесей ибупрофена и кетопрофена (изократический режим), которые будут масштабированы до полупрепаративного анализа. Масштабирование осуществимо, поскольку значения степени разделения  $R_S \geq 2$ , что позволит проводить накопление энантиомеров с высокой степенью хиральной чистоты. Добавление динамических модификаторов будет нецелесообразным, поскольку достигнута оптимальная форма пиков, а также, отсутствие добавок упростит выделение целевой субстанции из раствора. Альтернативная аналитическая методика разделения рацемической смеси кетопрофена с применением градиентного изменения содержания соразтворителя также будет масштабирована до полупрепаративного анализа. В ходе полупрепаративного анализа будет оценено влияние неоптимальной формы второго пика на степень хиральной чистоты накопленных энантиомеров.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gumustas M., Ozkan S.A., Chankvetadze B. // Current Medicinal Chemistry. 2018. Vol. 25 No 33. P. 4152. DOI: 10.2174/0929867325666180129094955.
2. De Klerck K., Mangelings D., Vander Heyden Y. // J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2012. Vol. 69. P. 77. DOI: 10.1016/j.jpba.2012.01.021.
3. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV edition. Vol. I. General Pharmacopoeial Article. 1.2.1.2.0006.15 «Supercritical fluid chromatography». [Electronic publication]. Access mode: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (in Russ.).
4. Rainsford K.D. // Inflammopharmacology, 2009. Vol. 17. No 6. P. 275. DOI: 10.1007/s10787-009-0016-x.
5. Kantor T.G. // J. Human Pharmacology and Drug Therapy. 1986. Vol. 6. No 3. P. 93. DOI: 10.1002/j.1875-9114.1986.tb03459.x.
6. Camilo K., Foley J.P. // Chromatographia. 2021. Vol. 84. No 4. P. 371. DOI: 10.1007/s10337-021-04016-z.
7. Johannsen M. // J. Chromatography A. 2001. Vol. 937. No 1—2. P. 135. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)01330-9.
8. Kot A., Sandra P., Venema A. // J. Chromatographic Science. 1994. Vol. 32. No 10. P. 439. DOI: 10.1093/chromsci/32.10.439.
9. Lee H.J., Gahm J., Jin J.S., Ahn Y.G. // Indian J. of Pharmaceutical Education and Research, 2021. Vol. 55. No 2. P. 614. DOI: 10.5530/ijper.55.2.101.
10. Nováková L., Douša M. // Analytica Chimica Acta. 2017. Vol. 950. P. 199. DOI: 10.1016/j.aca.2016.11.002.
11. Medvedovici A., Sandra P., Toribio L., David F. // J. Chromatography A. 1997. Vol. 785. P. 159. DOI: 10.1016/S0021-9673(97)00585-2.

### DEVELOPMENT OF A SEMI-PREPARATIVE METHOD FOR CHIRAL SEPARATION OF IBUPROFEN AND KETOPROFEN RACEMIC MIXTURES BY SUPERCRITICAL FLUID CHROMATOGRAPHY

**M.I. Churkin** — Institute of Chemistry and Chemical-Pharmaceutical Technologies, Altai State University, Barnaul, Russia. ORCID: 0000-0001-5095-1152. E-mail: [mad\\_max99@icloud.com](mailto:mad_max99@icloud.com)

**N.G. Bazarnova** — Institute of Chemistry and Chemical-Pharmaceutical Technologies, Altai State University, Barnaul, Russia. ORCID: 0000-0002-4539-2744. E-mail: [bazarnova@chem.asu.ru](mailto:bazarnova@chem.asu.ru)

*Разработка полупрепаративного способа хирального разделения рацемических смесей ибупрофена и кетопрофена методом сверхкритической флюидной хроматографии*

---

Highly efficient analytical methods for separating racemic mixtures of ibuprofen and ketoprofen with supercritical fluid chromatography (SFC) have been developed using a chiral stationary phase based on amylose and supercritical carbon dioxide in combination with a co-solvent as a mobile phase. Optimum values of the resolution and selectivity for each pair of enantiomers have been achieved both in the isocratic and gradient modes. It has been revealed that the separation efficiency significantly depends on the co-solvent content in the mobile phase. The possibility of scaling the developed methods for semi-preparative analysis has been assessed.

**К e y w o r d s:** supercritical fluid chromatography, enantiomers, chiral separation, semi-preparative separation methods, analytical separation methods, ibuprofen, ketoprofen.

---

---