



Analysis of Insulin Glargine in Biopharmaceutical Formulations by Validated RP-LC and SE-LC Methods

Vanessa G. SCHRAMM², Bruna XAVIER², Maurício E. WALTER², Valquíria G. PERLIN¹,
Luís G.J. MOTTA¹, Leonardo C. CARDOSO¹ & Sérgio L. DALMORA^{1*}

² Department of Industrial Pharmacy &
² Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences,
Federal University of Santa Maria, 97.105-900 – Santa Maria-RS, Brazil

SUMMARY. A reversed-phase liquid chromatography (RP-LC) and a size exclusion liquid chromatography (SE-LC) methods were validated for the assessment of insulin glargine. The RP-LC method was carried out on a Jupiter-C₄ column (250 mm × 4.6 mm i.d.), at 30 °C. The mobile phase consisted of a 50 mM sodium sulphate buffer solution pH 2.5, and acetonitrile, run isocratically at a flow rate of 0.5 mL/min. The SE-LC method was carried out on a BioSep-SEC-S 2000 column (300 × 7.8 mm i.d.), at 25 °C. The mobile phase consisted of 30 mM MES buffer pH 2.5, run isocratically at a flow rate of 0.6 mL/min. The separation was obtained with retention times of 7.5 and 9.9 min, with quantitation limits of 0.054 and 0.027 µg/mL, and detection at 214 and 200 nm, respectively, for RP-LC and SE-LC. The methods were applied to the analysis of biotherapeutics.

RESUMEN. Un método de cromatografía líquida de fase inversa (LC-RP) y otro de cromatografía líquida de exclusión por tamaños (SE-LC) fueron validados para la evaluación de insulina glargina. El método de RP-LC se llevó a cabo en una columna Jupiter-C₄ (250 mm × 4,6 mm de diámetro interno), a 30 °C. La fase móvil consistió en un solución tampón 50 mM de sulfato de sodio de pH 2,5 y acetonitrilo, ejecutado isocráticamente a un caudal de 0,5 mL/min. El método SE-LC se llevó a cabo en una columna Biosep-SEC-S 2000 (300 × 7,8 mm de diámetro interno), a 25 °C. La fase móvil consistió en tampón MES 30 mM de pH 2,5, ejecutado isocráticamente a un caudal de 0,6 mL/min. La separación se obtiene con tiempos de retención de 7,5 y 9,9 min, con límites de cuantificación de 0,054 y 0,027 µg/mL y detección a 214 y 200 nm, respectivamente, para RP-LC y SE-LC. Los métodos se aplicaron al análisis de fármacos.

KEY WORDS: biotechnology, insulin glargine, reversed-phase liquid chromatography, size exclusion liquid chromatography, validation.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: sdalmora@terra.com.br