

ВЛИЯНИЕ МАТРИЦЫ НА ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИМЕСИ АМИНОКИСЛОТЫ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ НА ОСНОВЕ АМИНОДИФОСФОНОВЫХ КИСЛОТ

Ренкевич А. Ю., Дробот А. В., Бойченко А. П.

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

Antonchem88@rambler.ru

Несмотря на развитие инструментальных методов разделения и количественного определения, таких как высокоэффективная жидкостная хроматография и капиллярный электрофорез, метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) продолжает широко использоваться для контроля примесей в различных объектах. Практически каждая монография Европейской фармакопеи содержит ТСХ методику контроля качества лекарственной субстанции. Часто эти же методики используют и при анализе готовых лекарственных форм. Очевидно, что в последнем случае необходима валидация методики, позволяющая подтвердить ее применимость к конкретному объекту анализа.

В нашей предыдущей работе [1] была предложена методика определения примеси 4-аминобутановой кислоты (АБК) в субстанции алендроната натрия методом мицеллярной тонкослойной хроматографии (МТСХ), позволившая в несколько раз сократить время хроматографирования, по сравнению с нормативной методикой нормально-фазовой ТСХ [2].

В этой работе мы исследовали применимость нормативной и предложенной нами ранее методики [1] для контроля содержания примеси АБК в таблетках «Алендронат натрия», а также провели оптимизацию и валидацию последней.

Пробоподготовка пробы включала растирание таблеток «Алендронат натрия», взятие навески и ее растворение в воде или этаноле. Растворы сравнения готовили растворением навесок АБК в соответствующем объеме воды или спирта. Модельные растворы таблеток готовили растворением вспомогательных веществ в воде или спирте. Мицеллярные подвижные фазы готовили по навескам поверхностно-активных веществ. Водно-органическую подвижную фазу готовили смешиванием известных объемов органических растворителей и воды.

Для разделения использовали пластины Sorbfil-ПТСХ-АФ-А размером 10×10 см. Пробы наносили градуированным капилляром. Хроматографирование проводили в стеклянных камерах, насыщенных парами подвижной фазы, в случае НФ-ТСХ, и в камерах без насыщения при использовании мицеллярных подвижных фаз. Хроматограммы проявляли раствором нингидрина в 1-бутаноле и уксусной кислоте.

Сразу после проявления хроматограммы сканировались с оптическим разрешением 900 dpi в True Color режиме (16,7 млн. цветов) с использованием RGB модели цветопередачи в 96-битном режиме (32 бита на один канал) планшетным сканером HP ScanJet 4050G Photo. Сканирование проводилось в

программною оболочке HP Photosmart Essential. Полученные изображения сохранялись в файл с расширением TIFF без сжатия.

При использовании как нормативной, так и МТСХ методики, для контроля содержания 4-аминобутановой кислоты оказалось, что при хроматографирования примесь АБК задерживается на пластине за счет взаимодействия со вспомогательными веществами. В ходе исследования хроматографического поведения вспомогательных веществ установлено, что наибольшее мешающее влияние на движение пятна АБК оказывает лактоза.

На основании данных о значительном снижении растворимости лактозы при переходе от воды к спирту, мы предложили использовать этанол для растворения таблеток «Алендронат натрия» на этапе пробоподготовки, а растворы сравнения готовить растворением в этаноле известных количеств АБК, лактозы и крахмала для нивелирования неполного извлечения АБК из исследуемого образца и растворов сравнения. Кроме того, использование этанола позволило ускорить процесс нанесения пятен на пластину за счет более быстрого испарения с поверхности.

В ходе исследования устойчивости результатов разделения при изменении состава подвижной фазы установлено, что полуколичественное определение АБК в таблетках можно проводить при использовании водной подвижной фазы содержащей $5 \cdot 10^{-3}$ М неионного ПАВ Бридж 35, рН 2. При этом время хроматографирования сокращается до 20 мин, а форма пятен остается круглой. Оптимизированный состав подвижной фазы значительно снижает стоимость единичного анализа. Водные растворы Бридж 35 нетоксичны и невоспламеняемы в отличие от водно-органических элюентов.

Результаты определения АБК в таблетках «Алендроната натрия» не зависели от производителя НФ пластин и типа подложки, на которой закреплен сорбент (стекло, полимер, алюминий). Внутрिलाбораторное исследование воспроизводимости результатов определения АБК показало применимость оптимизированной методики для определения АБК в таблетках «Алендроната натрия». Методом вколотой пробы установлена возможность контроля содержания АБК при содержаниях в 5 раз ниже и 5 раз выше допустимого, а также отсутствие систематической погрешности при определении АБК. Применение цифровой обработки хроматограм позволило количественно определять АБК с погрешностью 10-15 % в широком диапазоне концентраций.

[1] Ле Конг Х., Бойченко А.П., Дробот А.В., Логинова Л.П. Методы и объекты химического анализа — 2009. — Т. 4, № 2. — С. 130-138.

[2] European Pharmacopoeia 6-th Ed. Monograph No. 1564. Sodium Alendronate. Council of Europe, Strasbourg, 2007.