

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ ПРИМЕСИ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ С ПОМОЩЬЮ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Строгая А.Г.,

магистрант ВГУ имени П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь

Научный руководитель Чиркин А.А., д-р биол. наук, профессор

Обычно структура примесей в фармацевтических субстанциях определяется с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в сочетании с различными методами детектирования и анализа. Известны обращенно-фазовая ВЭЖХ, которая используется для разделения неполярных и умеренно полярных соединений; нормально-фазовая ВЭЖХ, применяемая для разделения полярных соединений; ионообменная ВЭЖХ для разделения ионов и заряженных молекул и гель-проникающая хроматография при необходимости разделения молекул по размеру. После разделения компонентов в колонке используют ряд детекторов для идентификации и количественного анализа примесей: УФ-детектор для измерения хромофоров при поглощении ультрафиолетового или видимого света; масс-спектрометрия, служащая для определения молекулярной массы и структуры примесей; флуоресцентный детектор, обеспечивающий анализ соединений, способных к флуоресценции; рефрактометрический детектор, измеряющий показатель преломления и электрохимический детектор, используемый для анализа электроактивных соединений. Для идентификации примесей используют сравнение пиков с эталонными образцами примесей, для оценки молекулярной массы и степени фрагментации примесей применяют масс-спектрофотометрический анализ. Кроме того, используют инфракрасную спектроскопию и ядерный магнитный резонанс для оценки дополнительной структуры примесей. Количественное содержание примесей определяют по площади пиков на хроматограмме с применением калибровочных кривых или внутренних стандартов. Для точного анализа примесей метод ВЭЖХ должен быть разработан и валидирован в соответствии с требованиями регулирующих органов. Параметры валидации включают специфичность, линейность, точность, прецизионность, пределы обнаружения и количественного определения.

В лекарственном средстве с действующими веществами стрептоцид растворимый и сульфатазол натрия гексагидрат при контрольном исследовании была обнаружена примесь. Целью исследования явилось изучение структуры сопутствующей неидентифицированной примеси и ее идентификация.

Материал и методы. В исследовании был проведен анализ препарата, содержащего стрептоцид растворимый и сульфатазол натрия гексагидратсульфатазол с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием и высокоэффективной жидкостной хроматографии высокого разрешения с масс-спектрометрическим детектированием исследуемого лекарственного соединения (ЛС). В препарате была обнаружена примесь с молекулярной формулой $C_{10}H_{11}O_5N_3S_3$. Для измерений применяли хроматограф жидкостный Agilent 1200 (Agilent Technologies, США и хроматограф жидкостный Surveyor Plus с детекторами PDA, LTQ, Thermo Scientific, США).

Результаты и их обсуждение. На первом этапе испытаний была апробирована методика контроля качества ЛС по показателю «Количественное определение». Найдено наличие на всех хроматограммах испытуемого раствора ЛС пика неидентифицированной примеси со временем удержания 3,3 мин. В то же время на хроматограммах компонентов placebo и свежеприготовленной модельной смеси ЛС пик примеси отсутствовал. Кислотный гидролиз, щелочной гидролиз, перекисное окисление и температурное разрушение на отдельно взятые стрептоцид растворимый и сульфатазола натрия гексагидрата не привели к образованию неидентифицируемой примеси. На хроматограмме перекисного окисления

сульфата азола натрия гексагидрата был установлен пик со временем удерживания 3,3 мин, однако спектр данного пика не совпадал со спектром примеси. На хроматограмме температурного разрушения компонентов плацебо (условия термостатирования: температура 60 °С, продолжительность 3 часа) пик неидентифицированной примеси отсутствовал. Но на хроматограмме температурного разрушения модельной смеси ЛС при аналогичных условиях наблюдалось образование неидентифицированной примеси.

На втором этапе исследования осуществлялось выявление условий образования неидентифицированной примеси при использовании модельной смеси ЛС из серийных препаратов. Было обнаружено увеличение содержания неидентифицируемой примеси в модельных смесях ЛС и действующих веществ в процессе термостатирования при повышенных температурах и увеличении времени термостатирования, а также образование и увеличение содержания неидентифицируемой примеси при хранении модельных смесей ЛС и действующих веществ. Кроме того, была выявлена природа неидентифицированной примеси: это был продукт взаимодействия сульфата азола натрия гексагидрата и стрептоцида растворимого. Дополнительно было найдено отсутствие взаимодействия между сульфаниламидом и сульфата азола натрия гексагидратом, но было обнаружено увеличение содержания неидентифицируемой примеси в ЛС с течением времени.

Целью третьего этапа исследования была идентификация примеси: определение молекулярной формулы и обоснование химической структуры. Хромато-масс-спектрометрический анализ образцов проводили посредством жидкостного хромато-масс-спектрометра LTQ Orbitrap Discovery, включающего ВЭЖХ систему Surveyor Plus, линейную квадрупольную ловушку LTQ XL и орбитальную ловушку высокого разрешения. Ионизацию образцов проводили электрораспылением. С целью адаптации методики количественного определения к проведению масс-спектрометрической детекции с определением структуры сопутствующей примеси была проведена замена элюента на 20 мМ раствор аммония формиата. Время удерживания пика стрептоцида растворимого в данных условиях – 3,01 мин, сульфаниламида – 3,81 мин, сульфата азола натрия гексагидрата – 5,06 мин. На хроматограмме исследуемого образца наблюдалось наличие неизвестной примеси с временем удерживания 3,30 мин. В результате работы на третьем этапе «Идентификация примеси» с использованием хромато-масс-спектрометрического метода с высокой точностью была определена молекулярная формула неидентифицированной примеси с временем удерживания 3,3 мин – $C_{10}H_{11}O_5N_3S_3$ с молекулярной массой 349,41 [1].

Заключение. Установлена структура неидентифицированной примеси ($C_{10}H_{11}O_5N_3S_3,41$), которая включает сульфата азола и сульфокислоту.

1. Строгая А.Г. Определение структуры сопутствующей неизвестной примеси в лекарственном средстве с действующими веществами стрептоцид растворимый и сульфата азола натрия гексагидрат / Молодость. Интеллект. Инициатива: материалы XII Международной научно-практической конференции студентов и магистрантов, Витебск, 26 апреля 2024 г. / Витеб. гос. ун-т; редкол.: Е.Я. Аршанский (гл. ред.) [и др.]. – Витебск: ВГУ имени П.М. Машерова, 2024. – Том. 1. – С. 131–132.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ СЕТИ ГИДРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИХ ПОСТОВ ПО РЕГИОНАМ БЕЛАРУСИ

Стукачева К.К.,

студентка 4 курса ВГУ имени П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь

Научный руководитель – Е.В. Шаматульская, ст. преподаватель

В настоящее время Белгидромет располагает широкой сетью стационарных пунктов наблюдений, включающих метеорологические, гидрологические и агрометеорологические станции. Основой гидрометеорологической службы Беларуси является государственная сеть гидрометеорологических наблюдений, включающая в себя