

А.А. Кладиев

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОЙ ДЕСТРУКЦИИ МЕТОТРЕКСАТА МЕТОДОМ ВЭЖХ

Научный руководитель: канд. фарм. наук, доц. Р.И. Лукашов
*Кафедра фармацевтической химии с курсом повышения квалификации
и переподготовки*
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A.A. Kladiev

STUDY OF THE CHEMICAL DEGRADATION METHOTREXATE BY HTLC METHOD

Tutor: PhD, associate professor R.I. Lukashov
*Department of Pharmaceutical Chemistry with the Course of Advanced Training
and Retraining*
Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Для химической деструкции метотрексата были выбраны реагенты и наиболее оптимальным по результатам полученных хроматограмм является реактив Фентона.

Ключевые слова: химическая деструкция, метотрексат, ВЭЖХ-УФ.

Resume. Reagents were selected for chemical degradation of methotrexate and the most optimal according to the results of the obtained chromatograms is Fenton's reagent.

Keywords: chemical degradation, methotrexate, HPLC-UV.

Актуальность. Метотрексат применяется для лечения различных онкологических заболеваний, тяжелых форм псориаза и ревматоидного артрита. Препарат обладает повышенной токсичностью для человека, что необходимо учитывать при его использовании и дальнейшей утилизации его остатков.

Для утилизации отходов цитостатических лекарственных средств применяют различные походы: пиролизическое сжигание при температуре не ниже 1200°C или захоронение на специальных полигонах [1]. Оба метода имеют свои недостатки: в первом случае необходимость специального оборудования для создания и поддержания нужной температуры, во втором случае – возможность загрязнения окружающей среды токсичными отходами.

Цель: поиск химических методов деструкции метотрексата, которые будут более доступными и безопасными, чем описанные выше. Задачи исследования: выбор оптимальных агентов деструкции, определение оптимальной концентрации, оптимизация метода и его оценка.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования был выбран раствор для инъекции метотексата 10мг/мл. Метод деструкции: исследуемый раствор смешивали с выбранным реактивом в соотношении 1:9, разводили до концентрации 0.004% и нагревали на водяной бане в течении одного часа при температуре 80°C. Для химической деструкции метотрексата были использованы следующие реактивы: 0.1 М раствор HCl, 0.1 М раствор NaOH, 30% раствор H₂O₂, смесь 30% раствора H₂O₂ с 0.1 М NaOH, 0.0167 М раствор K₂Cr₂O₇; 0.02 М раствор KMnO₄; реактив Фентона

(смесь 5 мл 0.1 М раствора FeSO_4 с 5 мл 30% H_2O_2). Исследование проводилось на основе статьи из американской фармакопеи.

Метод детекции: обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография.

Прибор: жидкостный хроматограф Ultimate 3000 с диодно-матричным детектором, колонка: 4.6-мм x 25 см, температура 15°C, подвижная фаза состоит из буфера и ацетонитрила, где буфер - это раствор NaH_2PO_4 с концентрацией 3.4 г/л, доведенный до pH 5.8.

Соотношение буфера к ацетонитрилу 19:1 в фазе А, соотношение в фазе Б 1:1. Скорость потока 1 мл/мин.

Результаты и их обсуждение. Первостепенной задачей исследования было установление оптимальной концентрации, были выбраны 0.004 и 0.002% концентрации раствора метотрексата. Из полученных результатов хроматографирования была выбрана концентрация 0.004%.

Можно предположить следующие реакции взаимодействия деструктирующих агентов с раствором метотрексата. В молекуле метотрексата амидная связь связывает фрагменты птероевой кислоты и глутаминовой кислоты.

Возможна реакция деградации амидной связи, которая катализируется либо кислотой, либо основанием с образованием глутаминовой кислоты и 4-амино-4-дезоксиптероевой кислоты. Возможные продукты реакции раствора метотрексата с 30% пероксидом водорода могут включать окисленные формы метотрексата, а также, в зависимости от условий, другие побочные продукты: уксусная кислота или формальдегид.

При использовании в качестве деструктирующих агентов дихромата калия, перманганата калия и реактива Фентона возможно разрушение структуры метотрексата со значительным снижением его концентрации.

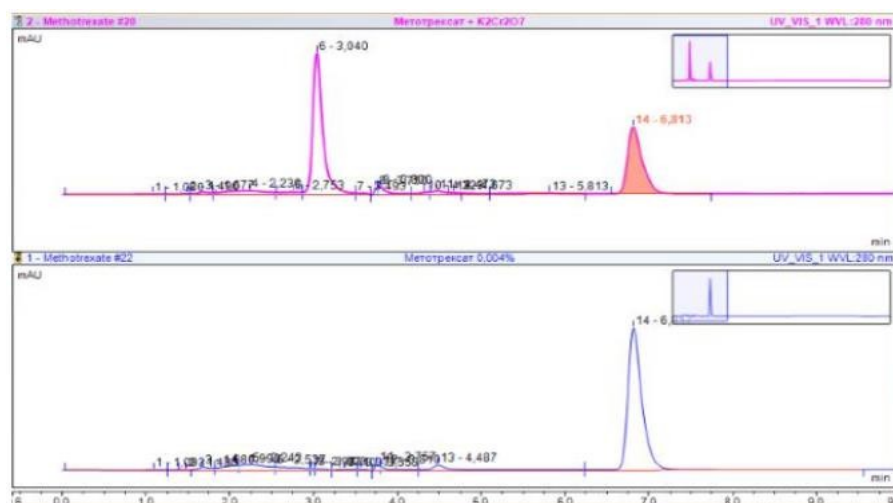


Рис. 1 – Хроматограмма раствора метотрексата после реакции с раствором $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$



Рис. 2 – Хроматограмма раствора метотрексата после реакции с раствором Фентона

Табл. 1. Сводная таблица результатов анализа деструкции метотрексата

	Время выхода, мин	Относительная площадь пика, %	Высота пика	Уменьшение площади, %
Метотрексат	6.8	69	100	0
раствор HCl, 0.1 M	7.2	30	106	3
раствор NaOH, 30%	6.9	49	105	15
раствор H ₂ O ₂	6.9	36	82	12,5
смесь 30% раствора H ₂ O ₂ с 0.1 M NaOH	6.9	36	82	12,5
раствор KMnO ₄ 0.0167 M	6.8	31	55	45
раствор K ₂ Cr ₂ O ₇	6.8	6	8	91,5
реактив Фентона	Не определяется	Не определяется	Не определяется	100%

Исходя из этого можно предположить, что растворы HCl, NaOH и смесь H₂O₂ с NaOH в значимой степени не деструктировали структуру метотрексата, так как существенно не изменилась полученная в результате их взаимодействия хроматограмма. При исследовании влияния раствора KMnO₄ на раствор метотрексата заметна существенная деструкция, однако необходимо подобрать более подходящие условия, чтобы добиться лучшего результата. В случае же взаимодействия раствора метотрексата с растворами K₂Cr₂O₇ и реактива Фентона произошла значимая деструкция структуры исследуемого образца.

Выводы. В ходе проведенной работы по химической деструкции раствора метотрексата было установлено, что оптимальными реактивами для достижения поставленной цели являются

0.02 M раствор K₂Cr₂O₇ и реактив Фентона (смесь 5 мл 0.1 M раствора FeSO₄ с 5 мл 30% H₂O₂), которые уменьшают концентрацию цитостатического препарата на 91.5 и 100% соответственно. Другие реактивы, использованные в исследовании - 0.1 M

раствор HCl, 0.1 М раствор NaOH, 30% раствор H₂O₂, смесь 30% раствора H₂O₂ с 0.1 М NaOH, 0.0167 М раствор KMnO₄ - не эффективны для химической деструкции метотрексата, возможно, в некоторых случаях следует изменить условия, либо полностью отказаться от них.

Литература

1. Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь от 2 сентября 2024 г. № 137/44 “О порядке обращения с медицинскими отходами”.