

Кукреш А. Н., Корсик М. А., Грецкая М. А., Фроленков К. А., Литвинова Е. В.

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОПУТСТВУЮЩИХ ПРИМЕСЕЙ И КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ГЕНТАМИЦИНА В СУБСТАНЦИИ ГЕНТАМИЦИНА СУЛЬФАТА МЕТОДОМ ВЭЖХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НИЗКОТЕМПЕРАТОРНОГО СВЕТОРАССЕИВАЮЩЕГО ДЕТЕКТОРА

Республиканское унитарное предприятие «Белмедпрепараты», г. Минск

Гентамицины — антибиотики аминогликозидного ряда широкого спектра действия. Гентамицина сульфат применяется в различных лекарственных формах как монопрепарат так и в комбинации с другими лекарственными веществами. На РУП «Белмедпрепараты» выпускаются следующие лекарственные формы, в состав которых входит гентамицин сульфат: «Гентамицина сульфат, раствор для инъекций 40 мг/мл», «Гентамицина сульфат, раствор (капли глазные) 0,3 %», «Гентамицин, мазь для наружного применения 0,1 %», «Гентадекс, раствор (капли глазные) (1 мг + 3 мг)/1 мл».

Субстанция гентамицина сульфат, продуцируемая *Micromonospora purpurea*, представляет собой смесь родственных соединений гентамицинов С₁–С₂. Для применения субстанции гентамицина сульфата в фармацевтическом производстве необходимо контролировать компонентный состав гентамицина и содержания сопутствующих примесей. [1].

Для разделения компонентов гентамицина применяется метод жидкостной хроматографии, но так как в молекулах гентамицинов отсутствуют хромофорные группы, прямое спектрофотометрическое детектирование не применимо. Ранее контроль качества субстанции по показателю «Компонентный состав» осуществлялся с применением предколоночной дериватизации, в качестве дериватирующего агента использовался ортофталевый альдегид [2]. Определение сопутствующих примесей в субстанции гентамицина сульфата в условиях вышеуказанного метода затруднено мешающим влиянием самого дериватирующего агента. В настоящее время разработаны и включены в международные фармакопеи методики определения компонентного состава и содержания сопутствующих примесей гентамицина сульфата основанные на непосредственном хроматографическом разделении компонентов с последующим электрохимическим детектированием при помощи амперометрического детектора, работающего в импульсном режиме [1, 3]. Единственным существенным недостатком предложенного в международных фармакопеях метода является необходимость использования дорогостоящего оборудования, в настоящий момент отсутствующего на предприятии.

Целью настоящей работы было разработать методику, позволяющую на необходимом уровне контролировать качество субстанции гентамицина сульфата с использованием доступного оборудования.

В основе разработанной методики лежит непосредственное хроматографическое разделение родственных гентамицинов и последующее их детектирование при помощи низкотемпературного светорассеивающего детектора (ELSD). Разделение проводилось на хроматографической колонке Zorbax Stable Bond-

C18 (5 мкм), размером 250×4,6 мм, фирмы «Agilent». В качестве подвижной фазы использовались растворы, содержащие различное количество трифторуксусной кислоты (ТФУ) в воде, в качестве органического модификатора был применен метанол. Исследовано влияние содержания ТФУ в подвижной фазе и определено содержание, при котором достигается наилучшее разделение компонентов. Изучено влияние количества метанола в подвижной фазе, подобраны условия, при которых достигаются приемлемые времена выхода всех компонентов гентамицина сульфата (менее 20 мин) и при сохранении необходимого разрешения пиков.

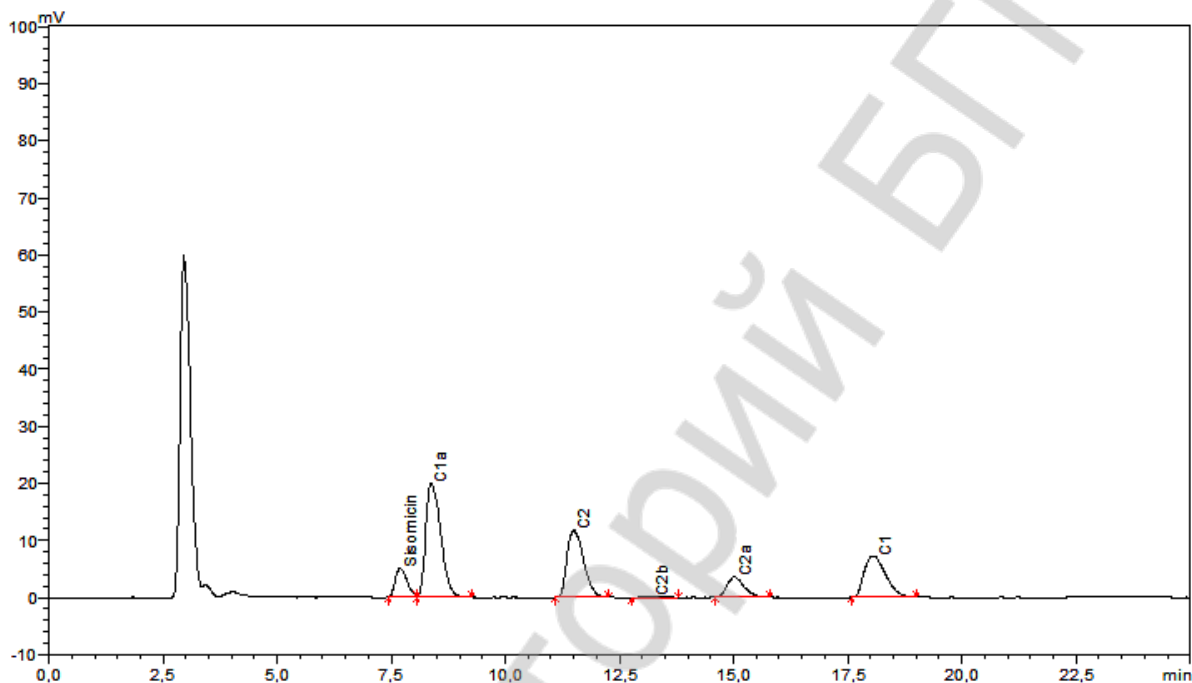


Рис. Хроматограмма раствора, содержащего 1 мг/мл ФСО гентамицина сульфата и 0,1 мг/мл ФСО сизомицина

Порядок выхода компонентов гентамицина сульфата в условиях разрабатываемой методики был определен при фракционировании раствора фармакопейного стандартного образца гентамицина сульфата в концентрации 10 мг/мл. Собранные фракции отдельных компонентов подвергались дериватизации ортофталевым альдегидом и были в дальнейшем проанализированы в условиях методики с известной последовательностью выхода компонентов гентамицина.

Валидация разработанных методик определения компонентного состава и содержания сопутствующих примесей гентамицина сульфата в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Республики Беларусь [4], в результате которой были исследованы следующие валидационные характеристики: специфичность (изучение продуктов деградации после стресс воздействия, а также влияние растворителя и сульфат-иона); линейность для каждого из компонентов гентамицина в диапазоне от 30 до 200 % и для сизомицина (идентифицированная примесь гентамицина) в диапазоне от 2 до 10 %; прецизионность системы для обоих тестов; правильность на трех уровнях концентраций; предел обнаружения и предел количественного определения для сизомицина.

ЛИТЕРАТУРА

1. *European Pharmacopoeia* 8.8. Gentamicin sulfate (monograph 0331).
2. *European Pharmacopoeia* Gentamicin sulfate 5.0 (monograph 0331).
3. *USP 38/NF 33*. Gentamicin sulphate.
4. *Государственная фармакопея Республики Беларусь II Т. 1. 5.3.2. Валидация аналитических методик испытаний / Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении ; под общ. ред. А. А. Шерякова. Молодечно : Победа, 2012. С. 895–908.*