



Возможности применения шприцевых фильтров для пробоподготовки в ходе исследований лекарственных средств

Методическая информация

Фармацевтические средства и дженерики с малой молекулярной массой

Авторы

Лимьян Жао (Limian Zhao)
и Уильям Лонг (William Long)
Agilent Technologies, Inc.

Аннотация

Шприцевые фильтры Captiva Premium компании Agilent прошли тщательные испытания с точки зрения пригодности для пробоподготовки при исследовании лекарственных средств. Потенциальное воздействие на связывание лекарственного вещества при фильтрации оценивалось по степени извлечения определяемого вещества. Были отобраны пять показательных лекарственных средств, существенно различающихся по своим химическим и физическим свойствам и склонности к связыванию. Все испытания проводились с помощью методик, указанных в Фармакопее США (USP). Результаты показали, что при правильном выборе мембраны фильтра, исходя из целевого вещества и среды пробы, шприцевые фильтры Agilent Captiva Premium обеспечивают отличные степени извлечения для соединений самого разного строения и химической природы.



Agilent Technologies

Введение

Пробоподготовка для анализа лекарственных средств включает разведение препаратов в растворе или среде с последующим центрифугированием или фильтрацией образца и вводом в аналитический прибор, обычно ВЭЖХ-хроматограф. Центрифугирование или фильтрацию проводят для того, чтобы перед ВЭЖХ-анализом удалить нерастворенные микрочастицы, так как они могут влиять на результаты хроматографии, засоряя колонку, что приводит к ее поломке [1].

По сравнению с центрифугированием фильтрация позволяет сэкономить время, средства и трудозатраты и позволяет удалять частицы не менее эффективно. Фильтрация проб перед вводом в ВЭЖХ-хроматограф защищает колонку от воздействия микрочастиц, продлевает срок службы колонки и сокращает время простоя приборов для ВЭЖХ [2]. Основной проблемой при фильтрации является вероятность адсорбции активных фармацевтических ингредиентов (АФИ), что приводит к занижению результатов анализа или даже их выходу за рамки требований. Еще одной проблемой является загрязнение проб экстрагируемыми из фильтров веществами, что мешает хроматографическому разделению, вызывая сложности при интегрировании пиков и даже приводя к ложным результатам.

С точки зрения как качественного, так и количественного анализа нежелательная адсорбция лекарственных веществ и наличие экстрагируемых веществ, попавших в ходе фильтрации пробы во время рутинного анализа фармацевтических препаратов, могут стать серьезной проблемой. Шприцевые фильтры компании Agilent тщательно обследуются на предмет чистоты и поставляются с сертификатами ВЭЖХ или ВЭЖХ-МС, которые гарантируют, что в них полностью или по большей части отсутствуют детектируемые экстрагируемые вещества, способные попасть в образец в ходе фильтрации [3].

Связывание определяемых веществ обычно вызывается взаимодействием мембраны фильтра и целевых соединений. На это взаимодействие могут повлиять физические свойства целевого соединения, его химическая структура, зарядовое состояние и молекулярная масса, а равно и общий состав продукта. Также взаимодействие могут вызывать свойства

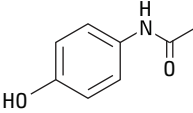
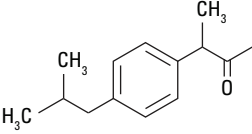
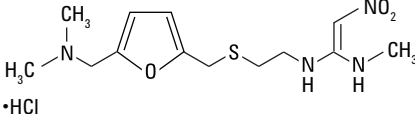
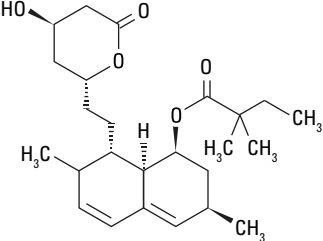
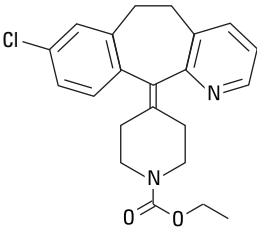
мембраны, такие как химическое строение образующего ее полимера, ее гидрофобность или гидрофильность, состав и чистота полимера и т. д. Выбор подходящей мембраны основывается на свойствах целевого вещества. Но считается, что селективность мембраны в отношении целевых веществ менее специфична, поэтому некоторые фильтры могут быть использованы для более широкого спектра целевых веществ. Чем менее селективна мембрана по отношению к определяемому веществу, тем шире спектр применения фильтра при отсутствии или незначительности связанных с адсорбцией проблем.

Также на возможность адсорбции влияет среда пробы, так как она непосредственно влияет на растворимость соединения и смачиваемость мембраны. Выбор подходящего фильтра также зависит от среды пробы и химической совместимости мембраны фильтра.

- Для водных проб предпочтительны гидрофильные мембраны, например из ацетата целлюлозы или полиэфирсульфона (ПЭС).
- Для органических проб, особенно при использовании агрессивных растворителей, следует использовать полипропиленовые или политетрафторэтиленовые (ПТФЭ) фильтры.
- Для смесей органических и водных проб в зависимости от процентного соотношения воды и органического растворителя применяются фильтры из ПТФЭ, полипропилена, нейлона, ПЭС и регенерированной целлюлозы.

В данной методической информации приводится исследование шприцевых фильтров Agilent Captiva Premium с точки зрения адсорбции АФИ. Были отобраны разнообразные соединения с различными свойствами в отношении связывания лекарственных соединений. Для оценки профиля элюирования для разных типов мембран использовали широкий спектр сред исследованных проб. Испытывались шесть типов широко используемых шприцевых фильтров, включая нейлоновые, нейлоновые со стекловолоконным префильтром (стекловолоконно/нейлон), фильтры из регенерированной целлюлозы, из ПЭС, из ПТФЭ и из ПТФЭ со стекловолоконным префильтром (стекловолоконно/ПТФЭ). Основываясь на среде пробы каждого лекарственного соединения, для каждого из них испытывали четыре различных вида фильтров.

Табл. 1. Молекулярные свойства и структура исследованных препаратов [4-8]

Лекарственное средство (торговое название)	Тип молекулы	Молекулярная структура	Структурные особенности	Молекулярная масса и рКа
Таблетки ацетаминофена (Тайленол, 500 мг/таблетка)	Ацетамид		Единственное ароматическое кольцо, более плоская структура	Молек. масса 151,17 рКа 9,38 Log P 0,46
Таблетки ибупрофена (Адвил, 200 мг/таблетка)	Производное пропионовой кислоты		Единственное ароматическое кольцо, гибкая плоская структура	Молек. масса 206,28 рКа 4,91 Log P 3,97
Таблетки ранитидина гидрохлорида (Зантак, 84 мг/таблетка)	Хлористоводородная соль основания		Единственное ароматическое кольцо, гибкая плоская структура	Молек. масса 350,87 (соль) Молек. масса 314,40 (основание) рКа 8,08 Log P 0,27
Таблетки симвастатина (Зокор, 10 мг/таблетка)	Исключительно малополярное соединение с лактоновым и сложноэфирным остатками		Неароматическая полициклическая система, жесткая и отличная от других соединений трехмерная структура	Молек. масса 418,57 рКа 4,7 Log P 4,68
Таблетки лоратадина (Кларитин, 10 мг/таблетка)	Пиперидинкарбамат		Несколько ароматических циклов, жесткая и отличная от других соединений трехмерная структура	Молек. масса 382,88 рКа 4,8 Log P 5,20

Экспериментальная часть

Вещества и реактивы

Пять лекарственных средств и их свойства перечислены в табл. 1. Эти средства были закуплены в местных аптечных пунктах.

Эталонный стандарт по ФармСША симвастатина был приобретен у компании Rockwell Compounding Associates, Inc. (Роквилл, штат Мэриленд, США). Эталонные препараты по ФармСША ибупрофен, ацетаминофен, ранитидина гидрохлорид, лоратадин и другие химические вещества были приобретены у компании Sigma-Aldrich Co. (Сент-Луис, штат Миссури, США). Ацетонитрил и метанол степени чистоты «для ВЭЖХ» куплены у компании Honeywell (Маскегон, штат Мичиган, США).

Приготовление растворов и стандартов

Буферные растворы, подвижные фазы и растворы для разведения/разбавления были подготовлены нижеописанным образом.

Ацетаминофен. Подвижная фаза была получена смешением 500 мл метанола с 1500 мл сверхчистой воды марки Milli-Q. Раствор подвижной фазы также использовался в качестве раствора для разбавления.

Ибупрофен. Буферный раствор (pH 4,0) был получен посредством растворения 10,0 г хлоруксусной кислоты в 900 мл воды, доведения pH до 4,0 при помощи гидроксида аммония и разведения водой до объема 1 л. Подвижная фаза была получена смешением 1200 мл ацетонитрила с 800 мл буферного раствора с pH 4,0. Раствор для разбавления был получен растворением 105 мг валерофенона в 300 мл раствора подвижной фазы.

Ранитидина гидрохлорид. Раствор ацетата аммония (0,1 М) был получен растворением 3,85 г ацетата аммония в 500 мл воды марки Milli-Q. Подвижная фаза была получена смешением 1700 мл метанола с 300 мл 0,1 М буферного раствора ацетата аммония. Этот раствор также использовался в качестве раствора для разбавления.

Симвастатин. Буферный раствор (pH 4,5) был получен посредством растворения 3,9 г одноосновного фосфата натрия в 900 мл воды, доведения pH до 4,5 при помощи 5 н. раствора гидроксида натрия или концентрированной фосфорной кислоты и разбавления водой до объема 1 л. Подвижная фаза была получена смешением 1300 мл ацетонитрила с 700 мл буферного раствора с pH 4,5. Буферный раствор (pH 4,0) был получен посредством добавления 3,0 мл безводной уксусной кислоты к 900 мл воды, доведения pH до 4,0 с помощью 5 н. раствора гидроксида натрия и разбавления водой до объема 1 л. Раствор для разбавления был получен смешением 800 мл ацетонитрила и 200 мл буферного раствора с pH 4,0.

Лоратадин. Буферный раствор на основе двухосновного фосфата калия (0,01 М) был получен посредством растворения 1,74 г безводного гидроортофосфата калия в 900 мл воды марки Milli-Q и доведения pH до 7,2 при помощи концентрированной фосфорной кислоты. Подвижная фаза была получена смешением 600 мл метанола, 600 мл ацетонитрила и 800 мл 0,01 М буферного раствора гидроортофосфата калия (pH 7,2). Раствор HCl (0,05 н.) был получен добавлением 41,5 мл соляной кислоты в мерную колбу объемом 500 мл, содержащую около 400 мл воды с последующим доведением до объема водой. Буферный раствор гидроортофосфата калия (0,6 М) был получен при растворении 10,5 г гидроортофосфата калия в 100 мл воды. Раствор для разбавления был получен посредством добавления 400 мл 0,05 М раствора соляной кислоты и 80 мл 0,6 М буферного раствора гидроортофосфата калия в мерную колбу объемом 1 л и доведения до объема смесью метанола и ацетонитрила в соотношении 1:1.

Эталонные растворы лекарственных веществ были получены при растворении точно взвешенного количества эталонного порошка до известного объема раствора для разведения. Эти эталонные растворы были пригодны для ввода в ВЭЖХ-хроматограф. В табл. 2 представлены подробные сведения об эталонах лекарственных средств и пробоподготовке.

Пробоподготовка

Концентрации исследуемого активного компонента в образцах лекарственных средств должны быть эквивалентны концентрациям в соответствующих эталонных растворах. Основываясь на содержании активного компонента в таблетках лекарственных средств, были подготовлены растворы проб для анализа согласно методикам, описанным в табл. 2. Перед вводом в ВЭЖХ-хроматограф конечные пробы лекарственных средств были подвергнуты или центрифугированию, или фильтрации.

Табл. 2. Стандарты лекарственных средств и пробоподготовка [9-13]

Лекарственное соединение	Ацетаминофен	Ибупрофен	Ранитидина гидрохлорид	Симвастатин	Лоратадин
Раствор для разведения (разбавитель)	Метанол/вода в соотношении 1:3	Ацетонитрил / буферный раствор с рН 4,0 с 0,35 мг/мл валерофенона (внутр. стандарт) в соотношении 60:40	Метанол / 0,1 М раствор ацетата аммония в соотношении 85:15	Ацетонитрил / буферный раствор с рН 4,0 в соотношении 80:20	Метанол/ацетонитрил/буферный раствор в соотношении 26:26:48
Концентрация исследуемого активного компонента (мг/мл)	0,01	12	0,112	0,1	0,4
Подготовка раствора эталонного вещества	1. Аккуратно взвесьте приблизительно 1 мг порошка эталонного вещества. 2. Разведите в рассчитанном объеме разбавителя (примерно 10 мл). 3. Развести в десять раз 1 мл указанного выше раствора раствором разбавителя	1. Аккуратно взвесьте приблизительно 120 мг порошка эталонного вещества. 2. Разведите в рассчитанном объеме разбавителя (примерно 10 мл).	1. Аккуратно взвесьте приблизительно 1,12 мг порошка эталонного вещества. 2. Разведите в рассчитанном объеме разбавителя (примерно 10 мл).	1. Аккуратно взвесьте приблизительно 1 мг порошка эталонного вещества. 2. Разведите в рассчитанном объеме разбавителя (примерно 10 мл).	1. Аккуратно взвесьте приблизительно 1 мг порошка эталонного вещества. 2. Разведите в рассчитанном объеме разбавителя (примерно 2,5 мл).
Таблетки лекарственного вещества	Тайленол, 500 мг/таблетка	Адвил, 200 мг/таблетка	Зантак, 84 мг/таблетка	Зокор, 10 мг/таблетка	Кларитин, 10 мг/таблетка
Пробоподготовка для исследования таблетки лекарственного вещества	1. Растворить 10 таблеток в растворе разбавителя до объема 500 мл. 2. Смешать 1 мл указанного выше раствора с разбавителем до объема 1000 мл.	Растворить 15 таблеток в растворе разбавителя до объема 250 мл.	1. Растворить 10 таблеток в растворе разбавителя до объема 250 мл. 2. Смешать 16,67 мл с разбавителем до объема 500 мл.	1. Растворить 10 таблеток в растворе разбавителя до объема 250 мл. 2. Смешать 25 мл с разбавителем до объема 100 мл.	Растворить 10 таблеток в растворе разбавителя до объема 250 мл.

Оборудование

Методики ФармСША были адаптированы для использования с колонками Agilent Poroshell 120. В каждом случае были внедрены допустимые изменения. Использовалась система ВЭЖХ компании Agilent серии 1200 Infinity с детектором на основе диодной матрицы DAD SL.

В табл. 3 приведены условия ВЭЖХ для каждого лекарственного средства. Так как в данных исследованиях лекарственных средств использовались колонки Poroshell 120 2,7 мкм и учитывая, что шприцевые фильтры 0,45 мкм с доказанной эффективностью защищают такой тип колонок [2], у всех шприцевых фильтров в данном испытании были мембраны с размером пор 0,45 мкм и 25 мм в диаметре.

Комплекующие Agilent

Флаконы	Янтарного цвета, с местом для надписей, 100 шт/уп (№ по кат. 5182-0716)
Крышки для флаконов	Синяя навинчивающаяся крышка, 100 шт/уп (№ по кат. 5182-0717)
Шприц	10 мл, 100 шт/уп (№ по кат. 9301-6474)
Шприцевые фильтры Captiva Premium	Нейлоновые (№ по кат. 5190-5093), ПТФЭ (№ по кат. 5190-5087), из регенерированной целлюлозы (№ по кат. 5190-5111), из полиэфирсульфона (№ по кат. 5190-5099)
Многослойные шприцевые фильтры Captiva Premium	Нейлоновый фильтр со стекловолоконным префильтром (№ по кат. 5190-5135), фильтр из ПТФЭ со стекловолоконным префильтром

Табл. 3. Параметры прибора ВЭЖХ [9-13]

	Ацетаминофен	Ибупрофен	Ранитидин HCl	Симвастатин	Лоратадин
Колонка для ВЭЖХ	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 4,6 x 75 мм, 2,7 мкм (№ по кат. 697975-902)	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 4,6 x 75 мм, 2,7 мкм (№ по кат. 697975-902)	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 4,6 x 75 мм, 2,7 мкм (№ по кат. 697975-902)	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 4,6 x 75 мм, 2,7 мкм (№ по кат. 697975-902)	Agilent Poroshell 120 EC-C8, 4,6 x 50 мм, 2,7 мкм (№ по кат. 699975-906)
Подвижная фаза	Метанол/вода в соотношении 1:3	Ацетонитрил / буферный раствор с pH 4,0 в соотношении 60:40	Метанол / 0,1 М ацетат аммония в соотношении 85:15	Ацетонитрил / буферный раствор с pH 4,5 в соотношении 65:35	Метанол / ацетонитрил / 0,01 М буферный раствор K ₂ HPO ₄ с pH 7,2 в соотношении 30:30:40
Скорость потока, температура колонки, градиент	1,5 мл/мин, при комнатной температуре, в изократическом режиме	2,0 мл/мин, при комнатной температуре, в изократическом режиме	1,5 мл/мин, при комнатной температуре, в изократическом режиме	1,5 мл/мин, 45 °С, в изократическом режиме	1,2 мл/мин, 35 °С, в изократическом режиме
УФ-детектирование (нм)	243	254	322	238	254
Вводимый объем (мкл)	10	1	4	4	1

Отбор проб

Для испытаний были отобраны четыре типа шприцевых фильтров Cartiva Premium, каждый с размером пор 0,45 мкм и диаметром 25 мм. Для каждого типа фильтра делали по три параллельных измерения. Был профильтрован общий объем проб 20 мл, отобраны были 1^я, 2^я, 3^я, 5^я, 10^я, 15^я и 20^я аликвоты объемом 1 мл. Также пробы (5 мл) центрифугировали с частотой вращения 4000 об/мин в течение 5 минут.

Результаты и обсуждение

По каждому из лекарственных соединений для сравнения отбирались результаты проб эталонных растворов и лекарственных средств (после центрифугирования или фильтрации). Так как эталонные растворы и соответствующие пробы лекарственных средств были подготовлены в теоретически равных концентрациях, сравнение результатов как по площади пика, так и по отношению площадей демонстрирует степень извлечения активных ингредиентов при исследовании лекарственного средства. Абсолютная и относительная степени извлечения подсчитывались на основании сравнения.

Абсолютная степень извлечения является результатом сравнения центрифугированной или отфильтрованной пробы лекарственного средства со стандартом соответствующего соединения по площади пика или соотношению площадей.

Относительная степень извлечения является результатом сравнения фильтрованной пробы лекарственного средства с соответствующей центрифугированной пробой по площади пика или соотношению площадей.

Согласно критериям ФармСША абсолютная степень извлечения должна находиться в пределах $100 \pm 10\%$ [9-13]. Этот критерий учитывает процентное отклонение, указанное в аннотации к лекарственному средству, и любые дополнительные отклонения, вызванные манипуляциями с пробами лекарственных средств. Целью данной методической информации было выяснение того, вызывает ли фильтрация лекарственных средств потерю аналитов, т. е. отклонения при обработке проб. Поэтому больший интерес представляла относительная степень извлечения. Центрифугирование является традиционным методом, который обычно не вызывает опасений в отношении потери аналитов, поэтому было принято, что он дает стопроцентное извлечение. Поэтому за допустимый диапазон относительной степени извлечения мы приняли $100 \pm 1\%$ для того, чтобы продемонстрировать отсутствие риска при фильтрации, как и при центрифугировании.

Ацетаминофен

Ацетаминофен, также известный как парацетамол, широко применяется благодаря его анальгетическому и жаропонижающему действию. Средой пробы лекарственного средства был раствор метанола и воды в соотношении 25:75. Абсолютная степень извлечения при центрифугировании составила 101,4% (n = 10). В табл. 4 показаны результаты извлечения при фильтрации.

Согласно этим результатам, при использовании нейлоновых фильтров и нейлоновых фильтров со стекловолоконным префильтром в первом 1 мл фильтрата может отмечаться небольшая потеря, пока мембрана еще сухая. Поэтому при использовании нейлоновых фильтров мы рекомендуем не учитывать первый миллилитр фильтрата. При использовании фильтров из регенерированной целлюлозы и ПЭС учитывать можно весь фильтрат.

Табл. 4. Степень извлечения ацетаминофена при фильтрации (n = 3)

	Нейлоновый фильтр			Нейлоновый фильтр со стекловолоконным префильтром			Фильтр из регенерированной целлюлозы			Фильтр из ПЭС		
	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО
1-й мл	98,3	97,0	0,47	94,4	93,1	1,34	101,0	99,6	0,00	100,8	99,4	0,17
2-й мл	101,0	99,6	0,52	100,5	99,1	0,17	101,1	99,7	0,35	101,1	99,7	0,17
3-й мл	101,1	99,7	0,17	101,3	99,9	0,30	101,2	99,8	0,17	101,0	99,6	0,30
5-й мл	100,9	99,5	0,17	101,4	100,0	0,17	101,5	100,1	0,35	101,1	99,7	0,17
10-й мл	101,0	99,6	0,00	101,3	99,9	0,00	101,4	100,0	0,17	101,3	99,9	0,30
15-й мл	101,3	99,9	0,00	101,3	99,9	0,00	101,4	100,0	0,35	101,5	100,1	0,46
20-й мл	101,0	99,6	0,30	101,3	99,9	0,00	101,3	99,9	0,00	101,3	99,9	0,30

Ибупрофен

Ибупрофен, производное пропионовой кислоты, является прототипом многих нестероидных противовоспалительных средств, обладающим анальгезирующим и жаропонижающим действием. Средой пробы лекарственного средства был раствор ацетонитрила и водного буфера в соотношении 60:40. Абсолютная степень извлечения при центрифугировании составила 100,1% (n = 10). Результаты извлечения при фильтрации приведены в табл. 5 и демонстрируют высокие показатели для всех типов шприцевых фильтров Cartiva Premium, и фильтрат можно учитывать с самого начала.

Ранитидина гидрохлорид

Ранитидина гидрохлорид является неимидазольным блокатором гистаминовых рецепторов, отвечающих за желудочную секрецию (рецепторы H₂). Средой пробы лекарственного средства был раствор метанола и водного буфера в соотношении 85:15. Абсолютная степень извлечения при центрифугировании в среднем составила 95,6% (n = 10). Этот результат был подкреплён данными по абсолютному извлечению при фильтрации, показавшими, что лекарственное средство содержит примерно на 4% меньше активного ингредиента. При этом отличные и согласованные данные по относительной степени извлечения показали, что фильтрация сравнима с центрифугированием и не приводит к потере определяемого вещества (табл. 6).

Табл. 5. Степень извлечения ибупрофена (n = 3) при фильтрации

	Фильтр из ПТФЭ			Фильтр из ПТФЭ со стекловолоконным префильтром			Нейлоновый фильтр			Фильтр из регенерированной целлюлозы		
	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО
1-й мл	99,9	99,8	0,17	99,9	99,7	0,26	100,1	99,9	0,32	100,1	100,0	0,04
2-й мл	100,0	99,9	0,19	100,2	100,1	0,08	100,2	100,0	0,17	100,4	100,3	0,11
3-й мл	100,0	99,8	0,22	100,0	99,8	0,38	100,3	100,2	0,23	100,1	100,0	0,14
5-й мл	100,0	99,9	0,12	99,9	99,8	0,26	99,9	99,8	0,36	99,9	99,8	0,28
10-й мл	100,1	99,9	0,16	100,0	99,8	0,13	100,2	100,1	0,18	100,3	100,2	0,18
15-й мл	100,1	100,0	0,18	99,9	99,8	0,04	100,2	100,0	0,32	100,2	100,0	0,18
20-й мл	99,9	99,8	0,19	100,0	99,8	0,16	100,1	100,0	0,35	100,0	99,9	0,07

Табл. 6. Степень извлечения ранитидина гидрохлорида (n = 3) при фильтрации

	Фильтр из ПТФЭ			Фильтр из ПТФЭ со стекловолоконным префильтром			Нейлоновый фильтр			Фильтр из регенерированной целлюлозы		
	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО
1-й мл	95,6	100,0	0,24	95,7	100,1	0,08	96,0	100,4	0,00	96,0	100,4	0,24
2-й мл	95,9	100,2	0,21	96,0	100,4	0,14	96,2	100,6	0,00	96,0	100,4	0,29
3-й мл	95,9	100,2	0,08	95,9	100,3	0,16	95,9	100,3	0,16	96,1	100,5	0,21
5-й мл	95,8	100,2	0,16	96,0	100,4	0,08	99,8	100,2	0,08	96,1	100,5	0,16
10-й мл	95,9	100,3	0,24	95,9	100,2	0,08	95,9	100,3	0,28	96,0	100,4	0,14
15-й мл	95,7	100,1	0,29	95,9	100,3	0,21	96,0	100,4	0,21	95,9	100,3	0,14
20-й мл	95,7	100,1	0,08	96,0	100,4	0,14	96,0	100,4	0,21	96,0	100,4	0,08

Симвастатин

Симвастатин является производным ловастатина и сильнодействующим конкурентным ингибитором 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент А редуктазы. Средой пробы лекарственного средства был раствор ацетонитрила и водного буфера в соотношении 65:35. Средняя абсолютная степень извлечения составила 97,1% (n = 10) при центрифугировании, что указывало на примерно 3% недостаток активного ингредиента в лекарственном средстве. Относительная степень извлечения свидетельствует об отличных и согласованных результатах извлечения при фильтрации (табл. 7).

Лоратадин

Лоратадин является производным азатадина и антагонистом гистаминового рецептора H1 второго поколения, он используется для лечения аллергического ринита и аллергической сыпи. Средой пробы лекарственного средства был раствор ацетонитрила, метанола и водного буфера в соотношении 30:30:40. Средняя абсолютная степень извлечения составила 94,8% (n = 10) при центрифугировании, что указывало на примерно 5% недостаток активного ингредиента в лекарственном средстве. При этом относительная степень извлечения свидетельствует об отличных и согласованных результатах извлечения при фильтрации (табл. 8).

Табл. 7. Степень извлечения симвастатина (n = 3) при фильтрации

	Фильтр из ПТФЭ			Фильтр из ПТФЭ со стекловолоконным префильтром			Нейлоновый фильтр			Фильтр из регенерированной целлюлозы		
	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО
1-й мл	97,1	100,0	0,49	96,8	99,6	1,01	98,0	100,9	0,33	96,3	99,1	0,62
2-й мл	96,5	99,4	0,90	97,6	100,5	0,46	97,7	100,6	0,42	96,4	99,3	0,45
3-й мл	97,8	100,7	0,15	96,4	99,3	1,10	97,9	100,8	0,46	96,4	99,3	0,39
5-й мл	97,6	100,5	0,95	96,6	99,5	1,01	97,9	100,7	0,65	96,8	99,6	0,55
10-й мл	97,6	100,5	0,60	97,1	100,0	0,58	97,8	100,7	0,78	96,4	99,6	0,42
15-й мл	97,6	100,5	0,08	97,4	100,3	1,35	97,8	100,7	0,71	96,9	99,8	0,29
20-й мл	97,3	100,2	0,44	96,8	99,6	0,53	97,4	100,3	0,45	96,6	99,4	0,51

Табл. 8. Степень извлечения лоратадина (n = 3) при фильтрации

	Фильтр из ПТФЭ			Фильтр из ПТФЭ со стекловолоконным префильтром			Нейлоновый фильтр			Фильтр из регенерированной целлюлозы		
	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО	Абсолютная степень извлечения	Относительная степень извлечения	ОСО
1-й мл	95,0	100,2	0,84	95,3	100,6	0,48	95,1	100,3	0,23	95,2	100,4	0,48
2-й мл	95,3	100,6	0,77	94,6	99,8	1,37	95,0	100,3	0,53	95,4	100,7	0,26
3-й мл	94,7	100,0	0,71	95,2	100,5	0,31	95,3	100,5	0,40	95,0	100,3	0,38
5-й мл	95,1	100,4	0,54	95,0	100,2	0,15	94,8	100,0	0,31	95,4	100,7	0,30
10-й мл	94,6	99,8	0,66	95,2	100,4	0,61	94,9	100,1	0,57	95,8	100,1	0,82
15-й мл	94,9	100,2	0,46	95,0	100,2	0,52	95,5	100,8	0,83	94,9	100,1	1,09
20-й мл	94,7	100,0	0,09	94,6	99,8	0,15	95,3	100,5	0,30	95,2	100,4	0,38

Все фильтры Captiva Premium оказались подходящими для анализа лекарственных средств. Только нейлоновые фильтры и нейлоновые фильтры со стекловолоконным префильтром привели к немного более низкой степени извлечения для первого 1 мл фильтрата при фильтровании ацетоминофена, что указывает на небольшую адсорбцию данного лекарственного средства, пока нейлоновая мембрана еще сухая. Но для последующего фильтрата (после первого 1 мл) степень извлечения была отличной, это показывает, что увлажненная мембрана не приводит к адсорбции. Хотя по остальным лекарственным средствам при использовании всех типов фильтров степень извлечения хорошая, для обеспечения точности стоит не учитывать первый 1 мл фильтрата. Принимая во внимание эту рекомендацию, все образцы фильтратов прошли повторное испытание без учета первого 1 мл. 1 мл порции фильтрата со 2^й по 20^ю объединялись (всего приблизительно 6 мл). Затем смешанная проба фильтрата прошла повторный анализ ВЭЖХ. По каждому лекарственному препарату проводили по три параллельных измерения с использованием каждого типа фильтра, результаты приведены в табл. 9. Приведены только величины относительной степени извлечения, так как именно они более точно отражают воздействие фильтрации.

Выводы

Мембрана, матрица проб и химические свойства лекарственного средства могут повлиять на возможность адсорбции лекарственного средства во время фильтрации, поэтому для достижения точных и воспроизводимых результатов чрезвычайно важно подбирать соответствующие фильтры (по типу мембраны, размеру пор в мембране и размеру фильтра). В данной методической информации было продемонстрировано, что для обеспечения точности может понадобиться не учитывать начальную порцию фильтрат. Шприцевые фильтры Captiva Premium компании Agilent с мембранами из нейлона, ПТФЭ, ПЭС и регенерированной целлюлозы при наличии стекловолоконных префильтров или без них позволяют добиться отличной степени извлечения при пробоподготовке для широкого спектра анализируемых лекарственных средств, причем результаты сравнимы с результатами центрифугирования.

Табл. 9. Степень извлечения лекарственного средства при фильтрации и шприцевые фильтры Agilent Captiva Premium (n = 3)

Шприцевый фильтр	Отброшенный объем (мл)	Ацетаминофен		Ibuprofen		Ибупрофен		Симвастатин		Лоратадин	
		Средняя относительная степень извлечения (%)	ОСО, %	Средняя относительная степень извлечения (%)	ОСО, %	Средняя относительная степень извлечения (%)	ОСО, %	Средняя относительная степень извлечения (%)	ОСО, %	Средняя относительная степень извлечения (%)	ОСО, %
PTFE	1	н/д		99,9	0,2	100,2	0,2	100,3	0,5	100,2	0,5
GF/PTFE	1	н/д		99,9	0,2	100,3	0,1	99,9	0,8	н/д	
Nylon	1	99,6	0,2	100,0	0,3	100,3	0,2	100,6	0,6	100,2	0,5
GF/Nylon	1	99,8	0,1	н/д		н/д		н/д		100,4	0,5
RC	1	99,9	0,2	100,0	0,2	100,4	0,2	99,5	0,4	100,6	0,5
PES	1	99,8	0,3	н/д		н/д		н/д		н/д	

н/д — не испытывалось

Литература

1. R. E. Majors. LC:GC (January 1, 2012)
<http://www.chromatographyonline.com/lcgc/article/articleDetail.jsp?id=755108>.
2. L. Zhao. Syringe Filter Filtration Efficiency and Impact on LC Column Life. (Эффективность фильтрации шприцевыми фильтрами и ее влияние на срок службы колонок для ЖХ) Методическая информация, Agilent Technologies, Inc., номер публикации 5991-1309EN (2012).
3. Anon. Agilent Captiva Syringe Filters. (Фильтры Captiva Syringe компании Agilent) Raise Your Sample Filtration Standards. (Повышенное качество фильтрации проб) Брошюра, Agilent Technologies, Inc., номер публикации 5991-1230EN (2013).
4. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00316>
5. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01050>
6. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00863>
7. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00641>
8. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00455>
9. Монографии Фармакопеи США: Acetaminophen Tablets (Таблетки ацетаминофена)
http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m200.html
Монографии Фармакопеи США: Acetaminophen Capsules (Капсулы ацетаминофена)
http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m160.html#usp29nf24s0_m160
10. Монографии Фармакопеи США: Ibuprofen (Ибупрофен)
http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m39860.html
Монографии Фармакопеи США: Ibuprofen Tablets (Таблетки ибупрофена)
http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m39890.html
11. Монографии Фармакопеи США: Ranitidine Tablets (Таблетки ранитидина)
http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m73048.html
Монографии Фармакопеи США: Ranitidine Hydrochloride (Ранитидина гидрохлорид)
http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m73040.html
12. Монографии Фармакопеи США: Simvastatin Tablets (Таблетки симвастатина)
http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m75460.html
Монографии Фармакопеи США: Simvastatin (Симвастатин)
http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m75450.html
13. Монографии Фармакопеи США: Loratadine Tablets (Таблетки лоратадина)
http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m45896.html
Монографии Фармакопеи США: Loratadine (Лоратадин)
http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m45894.html

Дополнительная информация

Представленные данные отражают характерные результаты. Для получения дополнительной информации о наших продуктах и услугах посетите наш веб-сайт: www.agilent.com/chem.

www.agilent.com/chem

Компания Agilent не несет ответственности за возможные ошибки в настоящем документе, а также за убытки, связанные или являющиеся следствием получения настоящего документа, ознакомления с ним и его использования.

Информация, описания и технические характеристики в настоящем документе могут быть изменены без предупреждения.

© Agilent Technologies, Inc., 2013
Напечатано в США
14 мая 2013 г.
5991-2409RU



Agilent Technologies