

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛОРАТАДИНА

О.О. Новиков
Е.Т. Жилиякова
Н.Н. Сабельникова
Г.В. Васильев
Т.С. Полухина
М.Ю. Новикова

*Белгородский государственный
университет*

e-mail: novikov@bsu.edu.ru

В статье приведены результаты разработки методик контроля качества лоратадина методами хроматографии в тонком слое сорбента и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Разработана методика определения примесей в субстанции лоратадина. Разработанный набор методов контроля качества лоратадина рекомендован авторами для его определения в различных лекарственных объектах.

Ключевые слова: лоратадин, ТСХ, ВЭЖХ, примеси, контроль качества.

Большинство используемых антигистаминных средств обладает рядом специфических фармакологических свойств, характеризующих их как отдельную группу.

По своему химическому строению большинство из них относится к растворимым в жирах аминам, которые обладают сходной структурой. Ядро (R₁) представлено ароматической и/или гетероциклической группой и связано при помощи молекулы азота, кислорода или углерода (X) с аминогруппой. Ядро определяет выраженность антигистаминной активности и некоторые из свойств вещества. Зная его состав, можно предсказать силу препарата и его эффекты, например, способность проникать через гематоэнцефалический барьер.

Представления о клинической эффективности антигистаминных средств 2-го поколения при лечении ряда аллергических заболеваний были подвергнуты сомнению. Так, кетотифен не был зарегистрирован в ряде стран (в частности, в США), поскольку не были представлены убедительные данные о его эффективности. Действие препарата развивается достаточно медленно (в течение 4-8 недель), а фармакодинамические эффекты препаратов 2-го поколения доказаны лишь преимущественно *in vitro*. Среди побочных эффектов кетотифена зафиксированы седативное действие, диспептические явления, повышение аппетита, а также тромбоцитопения.

В последнее время созданы антигистаминные средства 3-го поколения, обладающие значительной селективностью, действующие только на периферические H₁-рецепторы. Эти препараты не проходят через гематоэнцефалический барьер и поэтому не оказывают побочных эффектов со стороны ЦНС.

Наиболее перспективными пероральными антигистаминными препаратами («золотой» стандарт терапии) заслуженно считаются лоратадин и цетиризин.

Лоратадин (klaritin) – наиболее часто назначаемый «новый» антигистаминный препарат, не обладающий седативным действием, значимыми лекарственными взаимодействиями, в том числе взаимодействиями с алкоголем, и рекомендуемый к применению больным всех возрастных групп. Прекрасный профиль безопасности klaritina позволил отнести препарат к списку безрецептурных лекарственных средств.

На сегодняшний день существует технологическая проблема создания лекарственных форм с лоратадином, связанная с его низкой растворимостью в воде. По этой же причине недостаточна его биологическая доступность при введении *per os*. Как следствие, возникает реальная фармакотерапевтическая перегрузка организма

значительными дозами препарата. Это, в свою очередь, не оправдано фармакоэкономически.

Существенное изменение физико-химических свойств лоратадина можно предполагать при его субмикро- и наноструктурировании, что подтверждено теоретически и серией предварительных экспериментов. Работа в данном направлении представляется перспективной. Для этого наиболее приемлемыми являются, на наш взгляд, методы механохимии.

Несомненно, изменение физико-химических свойств препарата может привести и к изменению его фармакологических и токсикологических характеристик, что требует пристального изучения.

Целью нашего исследования явилась разработка методов контроля качества лоратадина, пригодных для его определения в различных лекарственных объектах.

Использованные методы – хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

Тонкослойная хроматография. Приготовление испытуемого раствора. 3,0 г лоратадина количественно переносили в сосуд вместимостью 20 мл, прибавляли 10 мл метанола и взбалтывали в течение 15 мин. Полученную смесь фильтровали через предварительно промытый бумажный фильтр «синяя лента».

Приготовление раствора сравнения лоратадина. 5 мг СО лоратадина растворяли в 10 мл метанола.

На линию старта хроматографической пластинки SilicaGel 60 F254 размером 5 × 15 см наносили 50 мкл испытуемого раствора и такое же количество раствора сравнения лоратадина. Пластину помещали в насыщенную парами хроматографическую камеру со смесью диэтиловый эфир – диэтиламин (40 : 1) и хроматографировали восходящим методом. Когда фронт растворителей достигал около 10 см от линии старта, пластинку вынимали, сушили в токе воздуха до исчезновения запаха диэтиламина и просматривали в УФ свете при длине волны 254 нм. На хроматограмме испытуемого раствора наблюдали пятно, расположенное на уровне основного пятна на хроматограмме раствора сравнения лоратадина.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Приготовление испытуемого раствора. Точную навеску лоратадина количественно переносили в сосуд вместимостью 20 мл, прибавляли 10 мл метанола и перемешивали в течение 30 мин, затем смесь фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента» в мерную колбу вместимостью 25 мл. К осадку в сосуде прибавляли еще 10 мл метанола и перемешивали в течение 10 мин. Полученную суспензию фильтровали через тот же фильтр в ту же мерную колбу. Осадок на фильтре промывали 4 мл метанола, объём полученного фильтрата доводили до метки метанолом и перемешивали.

Полученный раствор дополнительно фильтровали через мембранный фторопластовый или нейлоновый фильтр с размером пор 0,47 мкм, отбрасывая первые 2 мл фильтрата.

Приготовление раствора сравнения лоратадин. Около 50 мг (точная навеска) СО лоратадина помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 40 мл метанола, доводили объём раствора метанолом до метки и перемешивали.

5,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объём раствора метанолом до метки и перемешивали. Полученный раствор фильтровали через мембранный фторопластовый или нейлоновый фильтр с размером пор 0,47 мкм, отбрасывая первые 2 мл фильтрата.

По 10 мкл испытуемого раствора и раствора сравнения лоратадина хроматографировали на жидкостном хроматографе с УФ спектрофотометрическим детектором

Приготовление раствора для проверки пригодности хроматографической системы. 2 мг СО дезлоратадина (примесь D лоратадина) и 2 мг примеси F CRS EP лоратадина помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 40 мл метанола, доводили объём раствора до метки метанолом и перемешивали.

По 10 мкл испытуемого раствора, раствора сравнения лоратадина и раствора для проверки пригодности хроматографической системы хроматографировали на жидкостном хроматографе с УФ спектрофотометрическим детектором в следующих условиях:

- колонка размером 150 × 4,0 мм, заполненная сорбентом «ReproSil – Pur Basic C18», размер частиц 3 мкм, или аналогичная, для которой выполняются требования к пригодности хроматографической системы:

- подвижная фаза: фосфатный буферный рН 2,5 – ацетонитрил (30 : 23);
- скорость подвижной фазы – 0,8 мл/мин;
- температура колонки 35°C;
- длина волны детектирования – 220 нм;

Содержание лоратадина в одной дозе препарата (X), в миллиграммах, рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{S_i \times m_o \times V_k \times 5 \times a \times P}{S_o \times m \times 50 \times 50 \times 100} = \frac{S_i \times m_o \times V_k \times a \times P}{S_o \times m \times 50000}, \quad (1)$$

где S_i – среднее значение площадей пиков лоратадина, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора;

S_{oi} – среднее значение площадей пиков лоратадина, вычисленное из хроматограмм раствора сравнения;

m_o – масса навески СО лоратадина, в миллиграммах;

m – масса навески препарата, в граммах;

V_k – вместимость мерной колбы, используемой для приготовления испытуемого раствора;

a – среднее значение массы препарата в единице упаковки;

P – содержание основного вещества в СО лоратадина.

Содержание лоратадина в препарате, в перерасчете на среднюю массу одной дозы, должно быть от 2,25 до 2,75 мг (или 4,5 до 5,5 мг).

Результаты считаются достоверными, если выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической системы, рассчитанная по пикам лоратадина на хроматограммах раствора сравнения лоратадина, должна быть не менее 5000 теоретических тарелок;

- относительное стандартное отклонение площадей пиков лоратадина на хроматограммах испытуемого раствора и раствора сравнения лоратадина должно быть:

для двух параллельных хроматограмм – 0,51%;

для трех – не более 1,34%;

для четырех – не более 1,92%;

для пяти – 2,37%;

- коэффициент разделения пиков примеси F и лоратадина на хроматограммах раствора для проверки пригодности хроматографической системы должен быть не менее 1,8.

Приготовление фосфатного буферного раствора рН 2,5. 1,1 г лития дигидрофосфата растворяли в 1000 мл воды и при непрерывном перемешивании прибавляли кислоту фосфорную концентрированную до получения раствора со значением рН, равным 2,50 ± 0,1.

Время удерживания основного пика на хроматограммах испытуемого раствора, полученное при количественном определении лоратадина, совпало со временем удерживания пика лоратадина на хроматограммах раствора сравнения лоратадина (рисунок).

Содержание лоратадина (X_i) в одной дозе, в процентах, от заданного количества рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{S_i \times m_o \times V_k \times 5 \times P \times 100}{S_o \times b \times 50 \times 50 \times 100} = \frac{S_i \times m_o \times V_k \times a \times P}{S_o \times b \times 500}, \quad (2)$$

где S_i – среднее значение площадей пиков лоратадина, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора;

S_{oi} – среднее значение площадей пиков лоратадина, вычисленное из хроматограмм раствора сравнения;

m_o – масса навески СО лоратадина, в миллиграммах;

V_k – вместимость мерной колбы, используемой для приготовления испытуемого раствора;

b – масса лоратадина в заданной дозе препарата, в миллиграммах;

P – содержание основного вещества в СО лоратадина.

Содержание лоратадина в единице условной дозы находилось в пределах $\pm 10\%$.

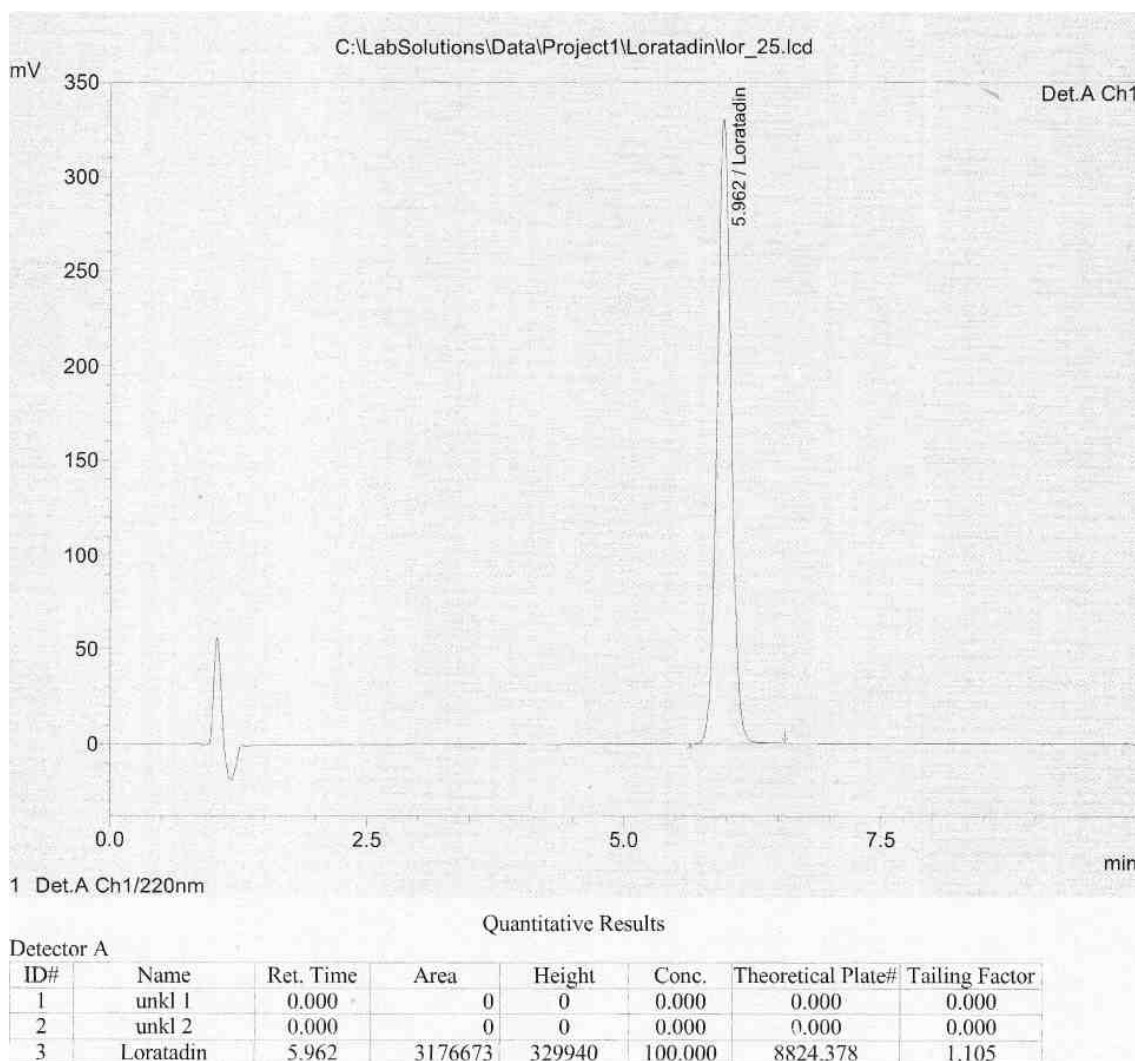


Рис. Хроматограмма испытуемого раствора, содержащего лоратадин.

Определение сопутствующих примесей. Определение проводили одновременно с количественным определением лоратадина методом ВЭЖХ.

Приготовление раствора сравнения. 25 мкл испытуемого раствора, приготовленного как указано выше, помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объём раствора метанолом до метки и перемешивали.

Хроматографирование проводили в условиях, описанных выше. Время хроматографирования испытуемого раствора модельного препарата составило около 3,5 времен удерживания пика лоратадина.

Установленное относительное время удерживания пиков сопутствующих примесей лората

дина: примесь D – около 0,2; примесь B – около 0,9; примесь F – около 0,9; примесь E – около 1,1; примесь A – около 2,4; примесь C – около 2,7. Все пики на хроматограмме испытуемого раствора с временем удерживания, меньшим времени удерживания примеси D, не учитывались.

Содержание каждой примеси (X_i) в препарате, в процентах от количества действующего вещества, рассчитывали по формуле:

$$X_i = \frac{S_i \times F}{S_{oi}} \times 0,1, \quad (3)$$

где S_i – среднее значение площади примеси, рассчитанное из хроматограмм испытуемого раствора;

S_{oi} – среднее значение площади пика лоратадина, рассчитанное из хроматограмм раствора сравнения;

F – коэффициент пересчета, учитывающий отличие оптических коэффициентов поглощения примесей от лоратадина.

Для примеси А коэффициент F равен 1,7; для примеси Е – 3,4; для примеси F – 1,6, для остальных примесей – 1,0.

Все пики на хроматограмме испытуемого раствора с временем удерживания, меньшим времени удерживания примеси D, и пики, площадь которых составляет 1/10 среднего значения площади пика лоратадина, рассчитанное из хроматограмм раствора сравнения, не учитывались.

Содержание каждой отдельной примеси не превышало 0,1%.

Суммарное содержание примесей не превышало 0,5%.

Таким образом, разработан набор методов контроля качества лоратадина, пригодных для его определения в различных лекарственных объектах.

Работа выполнена в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы, государственный контракт № 14.740.11.0119 от 08 сентября 2010 года, проект «Комплексные фармакологические и технологические исследования ряда субмикроструктурированных (наноструктурированных) фармацевтических субстанций с доказанными измененными физико-химическими свойствами».

ELABORATION OF QUALITY CONTROL METHODS OF LORATADINE

O.O. Novikov

E.T. Zhilyakova

N.N. Sabel'nikova

G.V. Vasil'ev

T.S. Polukhina

M.Yu. Novikova

The results of elaborating of quality control methods of loratadine are represented in article. TCL and HPLC methods were used in estimation and quantification of loratadine. Estimation of foreign substances in loratadine was established. Authors recommend these quality control methods for analysis of loratadine in different drugs.

Key words: loratadine, TCL, HPLC, foreign substances, quality control.

Belgorod State University

e-mail: novikov@bsu.edu.ru