

# РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИОН-ПАРНОЙ ОБРАЩЕНО-ФАЗНОЙ ВЭЖХ ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА МИБГ, <sup>123</sup>I

С.В. Лосева, М. А. Краюхина, Е. П. Филькова

ФГУП Федеральный центр по проектированию и развитию объектов ядерной медицины, филиал Завод «Медрадиопрепарат»

Разработка более современных и точных методик контроля качества радиофармацевтических лекарственных препаратов (РФЛП) является неотъемлемой частью развития производства РФЛП и внедрения стандартов Надлежащей производственной практики (GMP) при производстве РФЛП. В настоящее время «золотым стандартом» среди методов контроля качества лекарственных средств является ВЭЖХ. Его характеризует высокая точность, относительно небольшое время анализа, возможность полной автоматизации анализа, в том числе с использованием дистанционно управляемого оборудования. Кроме того, ВЭЖХ является очень гибким методом, который можно модифицировать «под задачи», что позволяет применять его для определения сразу нескольких показателей качества РФЛП за один цикл анализа. Изучение литературы (в т. ч. Европейской Фармакопеи 8.0, Британской Фармакопеи 2017, Фармакопеи США) показало, что основными методами контроля качества МИБГ, <sup>123</sup>I в настоящее время является ВЭЖХ и как альтернативный метод – ТСХ для определения радиохимической чистоты препарата (табл.1).

Т а б л и ц а 1 Методы, применяемые для контроля качества МИБГ, <sup>123</sup>I

Показатели качества МИБГ, <sup>123</sup> I*	Фармакопейная статья предприятия	Европейская фарм. 8.0, Британская фарм. 2017	Фармакопея США USP40 - NF35	Проект ФСП ФГУ РНЦРХТ
<b>Подлинность по мета-йодбензилгуанидину (МИБГ)</b>	Качественная реакция	ОФ ВЭЖХ (одновременно с РХЧ)	ИП ОФ ВЭЖХ (одновременно с РХЧ)	ОФ ВЭЖХ (одновременно с РХЧ)
<b>Количественное определение мета-йодбензилгуанидина, мг/мл</b>	Спектрофотометрия	Не нормируется	ИП ОФ ВЭЖХ	ОФ ВЭЖХ
<b>Радиохимическая чистота (РХЧ), %</b>	ТСХ + радиометрия	ОФ ВЭЖХ + радиометрия	ИП ОФ ВЭЖХ + радиометрия ТСХ + радиометрия	ОФ ВЭЖХ + радиометрия

**Цель:** Разработка ВЭЖХ методик контроля показателей качества (подлинность, количественное определение (КО), радиохимическая чистота (РХЧ)) РФЛП МИБГ, <sup>123</sup>I.

## Оборудование и материалы:

ВЭЖХ система Dionex Ultimate 3000, с 4-х волновым спектрофотометрическим UV-Vis детектором VWD 3000 RS, проточным радиометрическим детектором Gabi (Raytest), хроматографическая колонка Acclaim Polar Advantage, C18, 2,1×150 мм, 3мкм.



## Условия хроматографирования:

- Скорость потока : 0,4 мл/мин;
- Параметры детектирования: UV, 229 нм, Gabi на дату изготовления 500 cps = 1 v;
- Температура колонки: 30±1°C;
- Объем пробы: 5-20 мкл;
- Время анализа: 10-15 мин.

## Критерии пригодности хроматографической системы:

1. Ионизированные соединения йода – йодиды и йодаты (KI, KIO<sub>3</sub>), являющиеся радиохимическими примесями, должны достоверно детектироваться. Время их удерживания должно быть больше «мертвого» времени не менее чем на 20% (приведенное время удерживания R'<sub>t</sub> – не менее 0,5);
2. Разрешение между пиками йодида и йодата должно быть не менее 2;
3. Разрешение между пиками 3 –йодбензиламина и МИБГ должно быть не менее 3;
4. Фактор асимметрии пика МИБГ - не более 3,0.
5. Эффективность хроматографической колонки, рассчитанная на пик МИБГ, - не менее 1000 теоретических тарелок;
6. Относительное стандартное отклонение площадей пиков МИБГ на хроматограммах стандартного (для КО) и испытуемого (для РХЧ) растворов при 5-ти повторных введениях – не более 3%.

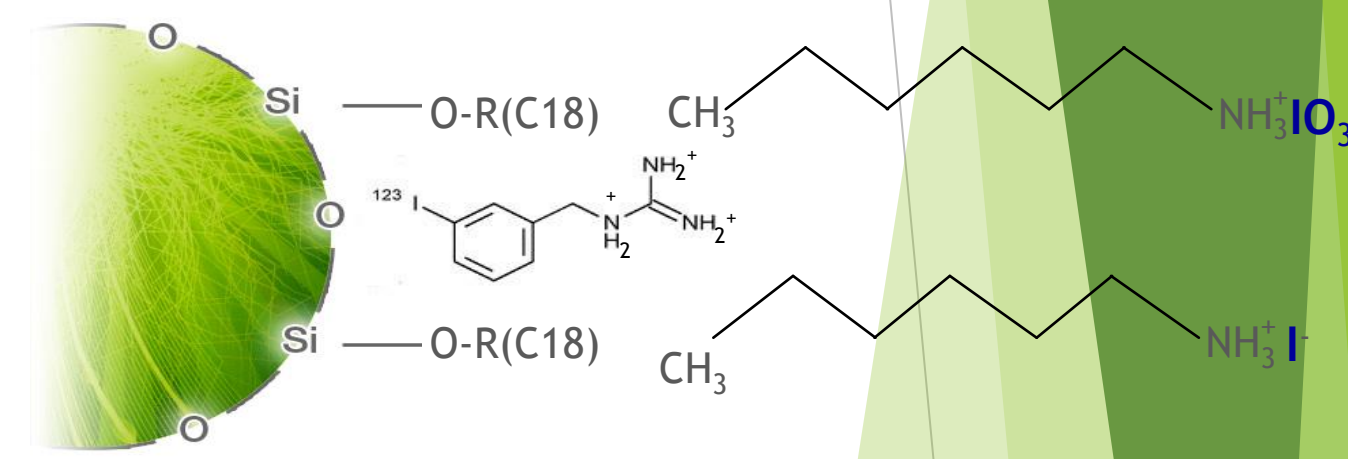
## Результаты:

В результате проведенной работы было определено, что методика «классической» обращено-фазной ВЭЖХ не позволяет получить достоверные результаты по показателю РХЧ в РФЛП МИБГ, <sup>123</sup>I. т.к. ионизированные соединения йода, являющиеся радиохимическими примесями, не удерживаются на сорбенте и элюируются вместе с «мертвым» объемом подвижной фазы (ПФ).

Для одновременного определения содержания основного органического вещества (МИБГ) и ионизированных примесей была начата разработка методики ион-парной обращено-фазной ВЭЖХ. Исследовано влияние состава ПФ - содержания и природы ион-парных реагентов (триэтиламин, гексиламин), концентрации органической фазы (ацетонитрила), и pH на время удерживания различных ионизированных соединений йода и основного вещества (табл. 2). Проведена сравнительная оценка ВЭЖХ и ТСХ методик определения РХЧ (табл. 3).

## Механизмы разделения при ион-парной обращено-фазной хроматографии:

Для повышения удерживания ионизированных соединений на обращено-фазном сорбенте в ПФ добавляется противоион (ион-парный реагент), заряд которого противоположен заряду молекулы ионизированного соединения. При вводе пробы содержащей ионизированные соединения создается ион-парный комплекс, обладающий свойствами неполярного вещества. Удерживание в ион-парном режиме обусловлено сложными равновесными процессами, конкурирующими между собой: гидрофобные взаимодействия с вытеснением полярной среды ПФ, сорбция гидрофобных ионов на поверхности силикагеля с привитыми алкильными радикалами (C18), таким образом, что заряженные группы обращены к подвижной фазе и образование ионной пары в объеме ПФ с последующей сорбцией на поверхности силикагеля по обращено-фазовому механизму.



## Влияние состава подвижной фазы на критерии пригодности хроматографической системы

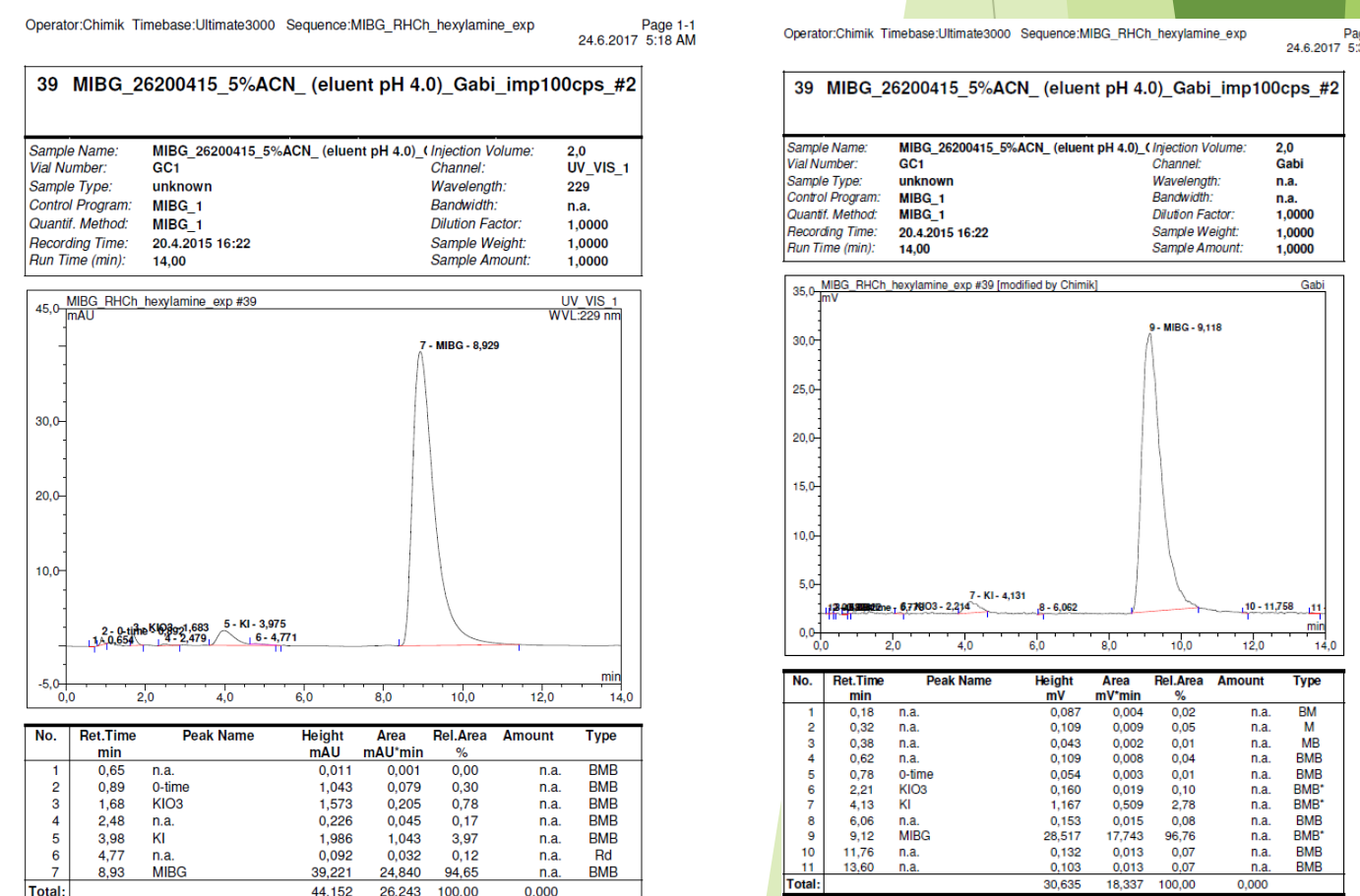
Т а б л и ц а 2

№ п/п	Состав ПФ	Ион-парный реагент	pH ПФ	Добавление KI, KIO <sub>3</sub>	Соответствие критериям пригодности	Пригодность методики
1	0,005 М КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub> : Ацетонитрил 88 : 22 % (об/об)	нет	не изм.	KI+KIO <sub>3</sub>	Не соответствует R' <sub>t</sub> (KI, KIO <sub>3</sub> ) = 0	КО + РХЧ -
2	Н <sub>2</sub> О+Н <sub>3</sub> РО <sub>4</sub> (для pH) : Ацетонитрил 80 : 20 % (об/об)	триэтиламин	4,0±0,1	KI+KIO <sub>3</sub>	Не соответствует R' <sub>t</sub> (KIO <sub>3</sub> ) = 0,1	КО + РХЧ -
3	Н <sub>2</sub> О+Н <sub>3</sub> РО <sub>4</sub> (для pH) : Ацетонитрил 90 : 10 % (об/об)	триэтиламин	4,0±0,1	KI+KIO <sub>3</sub>	Не соответствует R' <sub>t</sub> (KIO <sub>3</sub> ) = 0,2	КО + РХЧ -
4	Н <sub>2</sub> О+Н <sub>3</sub> РО <sub>4</sub> (для pH) : Ацетонитрил 80 : 20 % (об/об)	гексиламин	4,0±0,1	KI+KIO <sub>3</sub>	Не соответствует R' <sub>t</sub> (KI, KIO <sub>3</sub> ) = 0-0,1	КО + РХЧ -
5	Н <sub>2</sub> О+Н <sub>3</sub> РО <sub>4</sub> (для pH) : Ацетонитрил 85 : 15 % (об/об)	гексиламин	4,0±0,1	нет	Не соответствует R' <sub>t</sub> (KI, KIO <sub>3</sub> ) = 0,1-0,2	КО + РХЧ -
6	Н <sub>2</sub> О+Н <sub>3</sub> РО <sub>4</sub> (для pH) : Ацетонитрил 90 : 10 % (об/об)	гексиламин	4,0±0,1	KI+KIO <sub>3</sub>	Соответствует R' <sub>t</sub> (KIO <sub>3</sub> ) = 0,3-0,5	КО + РХЧ +
7	Н <sub>2</sub> О+Н <sub>3</sub> РО <sub>4</sub> (для pH) : Ацетонитрил 95 : 5 % (об/об)	гексиламин	4,0±0,1	нет	Соответствует R' <sub>t</sub> (KIO <sub>3</sub> ) = 0,5-0,8	КО + РХЧ +
8	Н <sub>2</sub> О+Н <sub>3</sub> РО <sub>4</sub> (для pH) : Ацетонитрил 95 : 5 % (об/об)	гексиламин	4,0±0,1	KI+KIO <sub>3</sub>	Соответствует R' <sub>t</sub> (KIO <sub>3</sub> ) = 0,5-1,0	КО + РХЧ +

## Сравнительная оценка результатов определения РХЧ РФЛП МИБГ, <sup>123</sup>I, двумя методами

Т а б л и ц а 3

Номер серии МИБГ, <sup>123</sup> I	РХЧ на дату изготовления, %		РХЧ за срок годности, %	
	ТСХ	ИП ОФ ВЭЖХ	ТСХ	ИП ОФ ВЭЖХ
15120315	97,3	97,8	93,1	94,3 94,8 (KI+KIO <sub>3</sub> )
16160315	96,6	98,3 98,2 (KI+KIO <sub>3</sub> )	92,1	94,2 94,2 (KI+KIO <sub>3</sub> )
17190315	96,4	99,0 98,3 (с KI+KIO <sub>3</sub> )	91,4	92,5 92,9 (KI+KIO <sub>3</sub> )



## Выводы:

1. Увеличения содержания полярного компонента в ПФ увеличивает время удерживания ионизированных соединений йода и позволяет более достоверно их детектировать.
2. Добавление «неактивных» ионизированных соединений йода, позволяет более достоверно детектировать радиоактивные соединения йода при определении РХЧ РФЛП.
3. Увеличение длины углеводородного радикала в ион-парном реагенте улучшает удерживание ионизированных соединений йода и позволяет более достоверно их детектировать.
4. Результаты ВЭЖХ методики сопоставимы с результатами ТСХ методики. И являются более точными, т.к. отсутствует вклад фона соседних участков хроматограммы, поскольку используется радиометрический детектор с проточной ячейкой.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

В результате проведенных исследований разработана методика ион-парной обращено-фазной ВЭЖХ позволяющая одновременно определить три основных показателя качества РФЛП МИБГ<sup>123</sup>I: подлинность и количественное определение (с использованием с фармакопейного стандартного образца) и РХЧ препарата.