

УДК 615.2/.3.011.5:543.54

АНАЛИЗ ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ¹Л.Л. Николаева, ¹И.Д. Гулякин, ^{1,2}Н.А. Оборотова, ²Н.Д. Бунятян¹ФГБУ Российский онкологический центр им. Н.Н. Блохина, г. Москва, Россия²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова,
г. Москва, Россия**ANALYSIS POLYVINYLPIRROLIDONE IN DOSAGE FORMS**¹L.L. Nikolaeva, ¹I.D. Gulyakin, ^{1,2}N.A. Oborotova, ²N.D. Bunyatyan¹Federal State Budgetary Scientific Institution «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center»,
Moscow, Russian Federation²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation
E-mail: alima91@yandex.ru

Данная статья посвящена подбору подвижной и неподвижной фазы для идентификации поливинилпирролидона в составе лекарственных форм методом тонкослойной хроматографии.

Ключевые слова: поливинилпирролидон, тонкослойная хроматография, анализ.

Хроматография – это физико-химический метод разделения смесей, в которых разделяемые компоненты распределены между двумя фазами: одна из этих фаз неподвижная, а другая постоянно движется в определенном направлении.

Для идентификации веществ методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) анализ проводился при одновременном хроматографировании одинакового количества анализируемого вещества и стандартного образца на одной и той же хроматограмме. Если вещества идентичны, то соответствующие им хроматографические зоны имеют одинаковую форму, интенсивность поглощения или окраски, а также равные величины R_f (отношение расстояния от линии старта до центра пятна к расстоянию от линии старта до фронта подвижной фазы) [1, 2].

Поливинилпирролидон (ПВП) – первичный продукт полимеризации N-винилпирролидона, относится к высокомолекулярным линейным полимерам с мо-

This article deals with the selection of the mobile and stationary phase for identifying polyvinylpyrrolidone formulations drug compounds by TLC.

Keywords: polyvinylpyrrolidone, TLC, analysis.

Chromatography is a physical and chemical method to divide blends where the divided components are distributed between two phases: one of these phases is fixed, and another constantly moves in certain direction.

To identify substances using the method of thin-layer chromatography (TLC) we carried out the analysis with simultaneous chromatography of an equal quantity of the substance under analysis and standard sample on the same chromatogram. If the substances are identical, corresponding to them chromatographic zones have the similar form, adsorption or coloration intensity, and equal values of R_f (relation of a distance from the start line before the spot center to distance from the start line to a front of a moving phase) [1, 2].

Polyvinylpyrrolidone (PVP) is a primary product of polymerization of N-vinylpyrrolidone. It belongs to high-molecular linear polymers with

лекулами линейной структуры длиной около 100 мкм, которые в низких концентрациях способны снижать гидролитическое сопротивление. При введении в кровоток ПВП благоприятно воздействует на системную гемодинамику и микроциркуляцию. По своим физиологическим свойствам ПВП аналогичен альбумину и способен заменять его [3]. В фармацевтической практике нашли применение как растворимые, так и нерастворимые марки ПВП (рис. 1).

linear structure molecules about 100 μm long, which in low concentrations are able to reduce hydrolytic resistance. After administration into a blood flow PVP positively influence the system geodynamics and microcirculation. PVP is similar to albumin by its physiological properties, and is able to replace it [3]. Pharmaceutical practice uses soluble as well as insoluble PVP brands (figure 1).

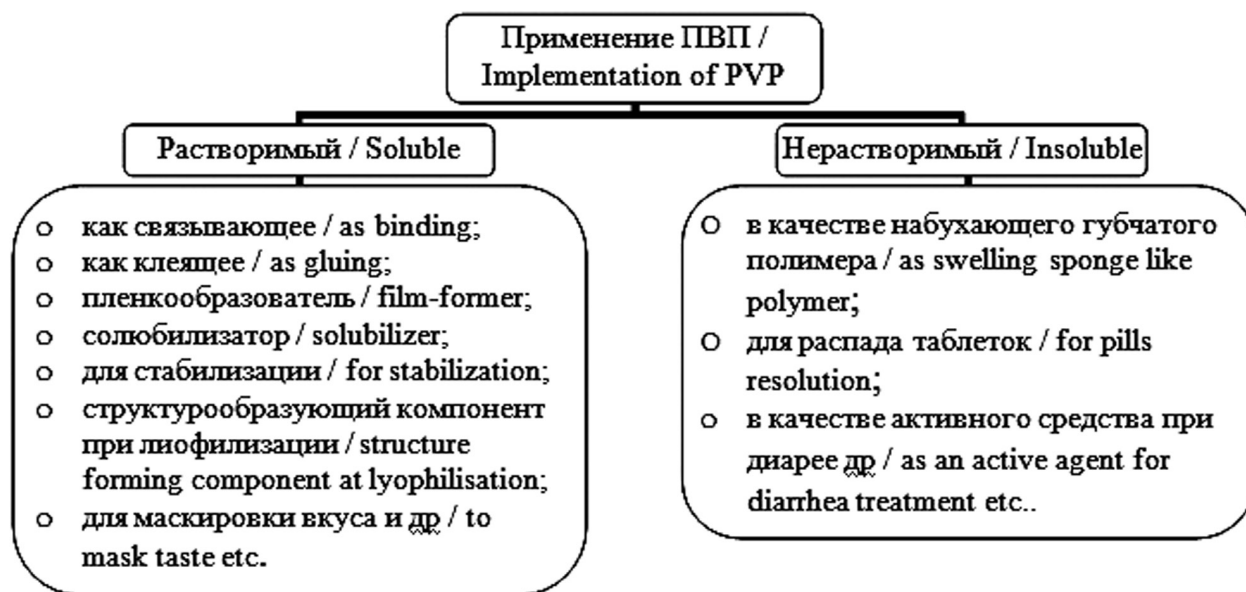


Рисунок 1 – Применение ПВП в фармации и медицине
Figure 1 – PVP implementation in pharmacy and medicine

ПВП входит во множество современных лекарственных форм, в т.ч. лиофилизированных, в связи с этим актуальной задачей является разработка метода его идентификации. Достаточно простым методом для идентификации веществ является метод ТСХ-анализа, который включен в Российскую и зарубежные фармакопеи.

Материалы и методы. Поливинилпирролидон (BASF, Германия), ЛХС-1208, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 9 мг, ормусти́н, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 125 мг (ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России), различные органические растворители: аммиак водный 25%, о.с.ч.; ацетон, ч.д.а.; бензол, ч.д.а., н-гексан, х.ч., метанол, х.ч.; пропанол-2, о.с.ч.; хлороформ, х.ч.; этилацетат, х.ч.; этиловый эфир, ч.д.а. (Химмед, Россия); н-бутанол, ч.д.а. (ЗАО Экос-1, Рос-

PVP is a part of a big number of contemporary dosage forms, including lyophilized drugs. In this connection, the working out of its identification method is a timely problem. TLC analysis is rather easy method to identify substances. It is listed in Russian and foreign pharmacopoeias.

Materials and methods: Polyvinylpyrrolidone (BASF, Germany), LHS-1208, lyophilisate for preparation of injections solutions 9 mg, Ormustin, lyophilisate for preparation of injection solutions 125 mg (Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of Russia), different organic solvents: water ammonium 25%, ASC: acetone, AD.: benzole, AD, n-hexane, CP, methanol, CP; propanol-2, ASC; chloroform, CP; ethylacetate, CP; ethanol, ASC (Himmed, Russia); n-butanol, ASC (Ekos-1, Russia); glacial acetic acid (GAA), CP (Mosreaktiv,

сия); ледяная уксусная кислота (ЛУК), х.ч. (ЗАО «Мосреактив», Россия); спирт этиловый 95% (ЗАО «Брынцалов-А» Фереин, Россия); йод кристаллический, ч.д.а. (Химмед, Россия); хроматографические пластинки Sorbfil ПТСХ-АФ-А, 10×15 см (Россия); Silica gel 60 F 254, 10×10 см со стеклянной подложкой (Merck, Германия); стеклянная камера с крышкой для ТСХ-анализа.

Методика ТСХ-анализа.

Подвижную фазу готовили в отдельной емкости путем смешивания выбранных растворителей и переливали в камеру, выложив внутренние стенки фильтровальной бумагой, смоченной в элюенте. Плотнo закрывали камеру крышкой и оставляли на 25–30 мин. для насыщения камеры парами элюента.

На линию старта хроматографической пластинки наносили по 5 мкл исследуемых образцов лиофилизатов ормустина и ЛХС-1208 и водный раствор стандартного образца вещества свидетеля (СОВС).

После подсушивания на воздухе пластинку с нанесенными пробами помещали в хроматографическую камеру с элюэнтom, плотно закрывали крышкой и хроматографировали восходящим способом. После достижения фронтом элюента линии финиша (пробег 12 см для пластинки Sorbfil и 7 см для Silica gel 60 F), пластинку вынимали из камеры и высушивали в потоке теплого воздуха до полного удаления запаха растворителя.

Для обнаружения ПВП пластинку помещали в камеру, насыщенную парами йода, и выдерживали около 1 мин до появления ярко-желтых пятен. Проявившиеся пятна в образцах идентифицировали относительно пятна СОВС и характеризовали по величине удерживания R_f .

1. Приготовление СОВС: точную навеску субстанции ПВП – 300 мг растворяли в 5 мл воды для инъекций (концентрация 60 мг/мл).

2. Приготовление раствора ЛХС-1208: флакон с лиофилизированной лекарственной формой ЛХС-1208 растворяли в 10 мл воды для инъекций (концентрация ПВП – 60 мг/мл).

3. Приготовление раствора ормустина: флакон с лиофилизированной лекарственной формой ормустина растворяли в 5 мл

Russia); ethanol 95% (Bryntsalov-A Fereyn, Russia); crystalline iodine, ASC (Himmed, Russia); Sorbfil PTSH-AF-A chromatographic plates, 10×15 cm (Russia); Silica gel 60 F 254, 10×10 cm with glass base (Merck, Germany); glass chamber with lid for TLC analysis.

Methods of TLC analysis:

Moving phase was prepared in separate bin by blending of the chosen solvents and poured into the chamber, spreading filtered paper with eluent over the walls. The chamber was closed with a lid and put for 25-30 minutes for chamber saturation with eluent vapors.

5 µl of the samples of ormustin lyophilisates and LHS-1208 under study and water solution of tracking standard was placed on the start line of chromatographic plate.

After air-drying, the plate with probes on it was put into chromatographic chamber with eluent, then it was closed with a lid and chromatographed using ascending technique. Once the eluent front reached the finish line (development length 12 cm for Sorbfil plate and 7 cm for Silica gel 60 F), the plate was put out from the chamber and dried out in a warm air til complete elimination of eluent smell.

To reveal PVP the plate was put into the chamber saturated with iodine vapors for 1 minute until the appearance of bright yellow spots. The spots appeared in the samples were identified considering the tracking standard spot and they were characterized by the R_f retention value.

1. Tracking standard preparation: accurately weighed quantity of PVP excipient – 300 mg, are dissolved in 5 ml of water for injections (60 mg/ml concentration);

2. LHS-1208 preparation: a flask with lyophilized dosage form LHS-1208 is dissolved in 10 ml of water for injections (60 mg/ml PVP concentration);

3. Preparation of ormustin solution: flask with lyophilized dosage form of ormustin is

воды для инъекций (концентрация ПВП – 60 мг/мл).

4. Приготовление йодной камеры: на дно эксикатора устанавливали тигель, в который насыпали кристаллы йода 1,0 г, оставляли на 15 мин для возгонки йода.

Результаты и их обсуждение.

В ходе эксперимента на двух пластинках (Sorbfil и Silica gel 60 F) осуществляли подбор подвижной фазы для хроматографического эксперимента с использованием различных систем растворителей. Значения R_f ПВП в различных системах растворителей представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Эффективность подвижной фазы при идентификации ПВП в лиофилизированных лекарственных формах

Table 1 – Efficiency of the moving phase at the identification of PVP in lyophilized dosage forms

Состав подвижной фазы / Composition of the moving phase	Значение R_f ПВП / Value of R_f PVP					
	Sorbfil			Silica gel 60 F		
	раствор ормустина / Ormustin solution	раствор JXC-1208 / LHS-1208 solution	COBC / Tracking standard	раствор ормустина / Ormustin solution	раствор JXC-1208 / LHS-1208 solution	COBC / Tracking standard
бензол: этанол 95% (1:1) / benzol: ethanol 95% (1:1)	*	*	*	*	*	*
бензол: ацетон (1:1) / benzol: acetone (1:1)	*	*	*	*	*	*
бензол: этилацетат (9:1) / benzol: ethyl acetate (9:1)	*	*	*	-	-	-
бензол: этилацетат: вода (10:4:1) / benzol: ethyl acetate: water (10:4:1)	*	*	*	-	-	-
ацетон: этилацетат: вода (10:4:1) / acetone: ethyl acetate: water (10:4:1)	*	*	*	*	*	*
ацетон: этанол 95% (1:1) / acetone: ethanol 95% (1:1)	*	*	*	*	*	*
н-бутанол: 25% аммиак (3:2) / n-butanol: 25% ammonia (3:2)	*	*	*	*	*	*
н-бутанол: 25% аммиак: ацетон (1:2:3) / n-butanol: 25% ammonia: acetone (1:2:3)	*	*	*	*	*	*
н-бутанол: этанол (1:1) / n-butanol: ethanol (1:1)	*	*	*	-	-	-
н-бутанол: н-гексан (1:1) / n-butanol: n-hexane (1:1)	*	*	*	-	-	-
н-бутанол: ЛУК: вода (12:3:5) / n-butanol: GAA: water (12:3:5)	*	*	*	*	*	*
пропанол-2: ЛУК: вода (12:3:5) / propanol-2: GAA: water (12:3:5)	*	*	*	*	*	*
пропанол-2: 25% аммиак (3:2) / propanol-2: 25% ammonia (3:2)	0,6	0,6	0,6	*	*	*
пропанол-2: 25% аммиак (10:1) / propanol-2: 25% ammonia (10:1)	*	*	*	*	*	*
пропанол-2: 25% аммиак: ацетон (2:1:3) / propanol-2: 25% ammonia: acetone (2:1:3)	*	*	*	*	*	*
пропанол-2: 25% аммиак: хлороформ (3:2:2) / propanol-2: 25% ammonia: chloroform (3:2:2)	*	*	*	*	*	*

dissolved in 5 ml of water for injections (60 mg/ml PVP concentration);

4. Preparation of iodine chamber: crucible with 1.0 g of iodine crystals was installed on the bottom of the exsiccator for 15 minute for iodine distillation.

Results and discussion:

During the experiment on two plates (Sorbfil and Silica gel 60 F) we assorted moving phase for chromatographic experiment using different solvent systems. PVP R_f values in different solvent systems are shown in the table 1.

Состав подвижной фазы / Composition of the moving phase	Значение R _f ПВП / Value of R _f PVP					
	Sorbfil			Silica gel 60 F		
	раствор ормустина / Ormustin solution	раствор ЛХС-1208 / LHS-1208 solution	СОБС / Tracking standard	раствор ормустина / Ormustin solution	раствор ЛХС-1208 / LHS-1208 solution	СОБС / Tracking standard
пропанол-2: 25% аммиак: бензол (3:2:2) / propanol-2: 25% ammonia: benzol (3:2:2)	*	*	*	*	*	*
пропанол-2: 25% аммиак: ЛУК (2:3:3) / propanol-2: 25% ammonia: GAA (2:3:3)	*	*	*	*	*	*
пропанол-2: 25% аммиак: этанол 95% (1:1:1) / propanol-2: 25% ammonia: ethanol 95% (1:1:1)	*	*	*	*	*	*
пропанол-2: 25% аммиак: этиловый эфир (3:2:2) / propanol-2: 25% ammonia: ethyl ether (3:2:2)	*	*	*	-	-	-
хлороформ: этанол 95% (7:1) / chloroform: ethanol 95% (7:1)	*	*	*	-	-	-
хлороформ: метанол (5:1) / chloroform: methanol (5:1)	*	*	*	-	-	-
хлороформ: этанол 95%: ЛУК (8:4:1) / chloroform: ethanol 95%: GAA (8:4:1)	*	*	*	*	*	*
хлороформ: этилацетат (9:1) / chloroform: ethyl acetate (9:1)	*	*	*	-	-	-
хлороформ: этилацетат: вода (8:6:1) / chloroform: ethyl acetate: water (8:6:1)	*	*	*	*	*	*
хлороформ: н-гексан: ЛУК (2:2:1) / chloroform: n-hexane: GAA (2:2:1)	*	*	*	*	*	*
хлороформ: ацетон: этанол 95%: 25% аммиак (21:9:2:1) / chloroform: acetone: ethanol 95%: 25% ammonia (21:9:2:1)	*	*	*	*	*	*
этанол 95%: 25% аммиак (3:2) / ethanol 95%: 25% ammonia (3:2)	0,7	0,7	0,7	*	*	*
этанол 95%: 25% аммиак: этиловый эфир (4:1:10) / ethanol 95%: 25% ammonia: ethyl ether (4:1:10)	*	*	*	*	*	*
этанол 95%: ЛУК: вода (12:3:5) / ethanol 95%: GAA: water (12:3:5)	*	*	*	*	*	*

Примечание: * ПВП остался на линии старта; исследование не проводили

Note: * PVP only remained at the start line; – no studies

По данным таблицы 1 видно, что ПВП на пластинке Silica gel 60 F на 22 исследуемых системах не обладает какой-либо хроматографической подвижностью, возможно, это связано с высокой сорбционной способностью исследуемого вещества. Применение пластинок Sorbfil на 30 различных системах растворителей показало, что лишь в двух случаях удалось оторвать ПВП от стартовой линии: пропанол-2: 25% аммиак (3:2) и этанол-2: 25% аммиак (3:2). Приделы обнаружения в этих системах были практически одинаковы и составили около 0,3 мкг/мл. Именно эти системы выбраны для идентификации ПВП в составе лиофилизированных лекарственных форм ормустина и ЛХС-1208.

As we can see from the table 1, PVP at Silica gel 60 F plate at 22 systems does not have any chromatographic movement. Probably it is linked with a high adsorption capability of the substance under study. Sorbfil plates application at 30 different systems showed that only in two cases PVP moved from the start line: propanol-2: 25% ammonia (3:2) and ethanol-2: 25% ammonia (3:2). Revelation limits in these systems were almost the same and amounted to 0.3 µg/ml. These systems are those chosen for PVP identification in composition of lyophilized dosage forms of ormustin and LHS-1208.

Выводы

С целью определения ПВП в лиофилизатах осуществлен выбор подвижной и неподвижной фаз по результатам проведенного исследования. Данные проведенного исследования можно использовать в качестве экспресс-метода определения исследуемого вещества в различных лекарственных формах.

Библиографический список

1. ОФС.1.2.1.2.0003.15. Тонкослойная хроматография. – М., 2015.
2. Сорбенты для тонкослойной хроматографии в фармацевтическом анализе / О.А. Горошко, О.А. Чеча, В.П. Пахомов и др. // Химико-фармацевтический журнал. – 2010. – № 9. – С. 53–56.
3. Гулякин И.Д., Оборотова Н.А., Печеников В.М. Солюбилизация гидрофобных противоопухолевых препаратов (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 2014. № 3. С. 46–50.

* * *

Николаева Людмила Леонидовна – младший научный сотрудник лаборатории разработки лекарственных форм ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Область научных интересов: разработка противоопухолевых препаратов, анализ фармацевтических препаратов. E-mail: alima91@yandex.ru

Гулякин Илья Дмитриевич – младший научный сотрудник лаборатории разработки лекарственных форм ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Область научных интересов: разработка противоопухолевых препаратов, анализ фармацевтических препаратов.

Оборотова Наталья Александровна – доктор фармацевтических наук, заведующая лабораторией разработки лекарственных форм ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, профессор кафедры фармацевтической технологии и фармакологии ИПО Первого МГМУ им. И.М. Сечено-

Conclusions

To determine PVP in lyophilisates we assorted moving and stable phases by the results of the study conducted. The data of the research can be used as an express method for the identification of the substance under study in different dosage forms.

References

1. OFS.1.2.1.2.0003.15. Tonkosloinaia khromatografiia [Thin Layer Chromatography].
2. Goroshko O.A., Checha O.A., Pakhomov V.P. et al. Sorbenty dlia tonkosloinoi khromatografii v farmatsevticheskom analize [Sorbents for thin layer chromatography in pharmaceutical analysis]. Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal [Chemical and Pharmaceutical journal], 2010, no. 9, pp. 53-56.
3. Guliakin I.D., Oborotova N.A., Pechenikov V.M. Soliubilizatsiia gidrofobnykh protivopukholevykh preparatov (obzor) [Solubilization of hydrophobic antitumor drugs (review)]. Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal [Chemical and Pharmaceutical journal], 2014, no. 3, pp. 46-50.

* * *

Nikolaeva Lyudmila Leonidovna – junior research associate of the laboratory for working out of dosage forms at N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of Russia. Area of expertise: working out of antitumor drugs, analysis of pharmaceutical drugs. E-mail: alima91@yandex.ru

Gulyakin Ilya Dmitrievich – junior research associate of the laboratory for working out of dosage forms at N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of Russia. Area of expertise: working out of antitumor drugs, analysis of pharmaceutical drugs.

Oborotova Natalya Aleksandrovna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Head of the laboratory for working out of dosage forms at N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of Russia, Professor of the Chair of Pharmaceutical Technology and Pharmacology at Sechenov First Moscow

ва. Область научных интересов: разработка противоопухолевых препаратов, анализ фармацевтических препаратов, исследование противоопухолевой активности лекарственных препаратов.

Бунятян Наталья Дмитриевна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической технологии и фармакологии ИПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Область научных интересов: разработка и стандартизация лекарственных препаратов.

State Medical University. Area of expertise: working out of antitumor drugs, analysis of pharmaceutical drugs, study of antitumor activity of medicinal drugs.

Bunyatyan Natalya Dmitrievna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor of the Chair of Pharmaceutical Technology and Pharmacology at Sechenov First Moscow State Medical University. Area of expertise: working out and standardization of medicinal drugs.