

Сложность и неоднозначность (как будет показано ниже) методики определения ММР в ЕФ является причиной того, что этот метод до сих пор не был включен в Государственную Фармакопею Украины (ГФУ). Поскольку, данный вопрос давно уже требует фармакопейного решения, и накоплен определенный опыт контроля ММР в декстранах, актуальным является систематический анализ, и решение вышеуказанных проблем с точки зрения принципов стандартизации с целью включения контроля ММР в декстранах и их препаратах в Дополнение к ГФУ.

1. Подход Европейской Фармакопеи к контролю ММР декстрана 40

Требования к качеству субстанции декстран 40 регламентируются монографией ЕФ «Декстран 40 для инъекций» [7]. Само же определение проводится с помощью эксклюзивной хроматографии и регламентируется требованиями общей статьи 2.2.39 «Молекулярно-массовое распределение в декстранах» [8], принципы которой остаются неизменными, по меньшей мере, с 1997 года.

1.1. Условия хроматографирования

- колонка размером 0.3 м · 10 мм с *поперечно-сшитой агарозой для хроматографии Р* или несколько колонок 0.3 м · 10 мм с *полиэфирным гидроксиллированным гелем для хроматографии Р*;
- подвижная фаза: 7 г *натрия сульфата безводного Р* и 1 г *хлорбутанола Р* в 1 л *воды Р*; скорость 0.5 — 1 мл/мин с вариацией не более ± 1 % в час;
- детектор — дифференциальный рефрактометр;
- объем пробы — 100-200 мкл; анализируемые пробы растворяют в подвижной фазе;
- температура системы должна поддерживаться с точностью ± 0.1 °С.

1.2. Калибровка

Стандартные образцы: как маркер нулевого объема (V_0) используется *EP CRS декстран V_0* ; для калибровки используются *EP CRS декстраны для калибровки 4, 10, 40, 70 и 250*, а также *глюкоза Р* как маркер полного объема (V_1).

Диапазон молекулярных масс при калибровке: 4 000 — 250 000 у.е. для декстранов, а также глюкоза (180 у.е.).

Хроматограмма каждого калибровочного декстрана разбивается на секции ($p \geq 60$), ха-

рактеризуемые молекулярной массой M_i , высотой y_i и коэффициентом распределения:

$$K_i = \frac{V_i - V_0}{V_i - V_0} \tag{1}$$

Разрешается использование графической (ручной) оптимизации (очень трудоемкой) с помощью полулогарифмической бумаги или оптимизации с помощью варьирования параметров b_1, b_2, b_3, b_4 и b_5 5-параметрического уравнения:

$$M_i = b_5 + e^{(b_4 + b_1 \cdot K_i + b_2 \cdot K_i^2 + b_3 \cdot K_i^3)} \tag{2}$$

которое связано с уравнением:

$$\overline{M_w} = \frac{\sum_{i=1}^p y_i \cdot M_i}{\sum_{i=1}^p y_i} \tag{3}$$

Рекомендуется использование итерационной процедуры Гаусса-Ньютона или других методов оптимизации нелинейных регрессий. Компьютерная оптимизация более точна, поскольку в расчетах могут использоваться все экспериментальные точки (а не $p \geq 60$ секций, на которые разбивается пик при ручной оптимизации).

1.3. Критерии оптимизации калибровки

Калибровка считается приемлемой, если выполняются следующие требования (критерии пригодности калибровки):

Для ручной оптимизации:

1. Для пяти стандартов декстранов, охватывающих диапазон молекулярных масс от 4 000 у.е. до 250 000 у.е., рассчитанные по уравнениям (2-3) значения M_w не должны отличаться от паспортных значений более чем на 5%.

2. Среднее значение для всех отклонений не должно превышать ± 3%.

Для компьютерной оптимизации:

1. Для глюкозы рассчитанное по уравнениям (2-3) значение M_w не должно отличаться от 180 у.е. более чем на 2 единицы (± 1.1%).

2. Для пяти стандартов декстранов, охватывающих диапазон молекулярных масс от 4 000 у.е. до 250 000 у.е., рассчитанные по уравнениям (2-3) значения M_w не должны отличаться от паспортных значений более чем на 5%.