

#### 1.4. Проверка пригодности системы

*Стандарт.* Используется EP CRS декстран 40 для проверки пригодности системы.

Рассчитывают среднюю молекулярную массу ( $M_w$ ) стандарта по уравнению (3) с использованием найденных при калибровке коэффициентов  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_3$ ,  $b_4$  и  $b_5$  уравнения (2). Рассчитывают также среднюю молекулярную массу 10% высокомолекулярной фракции ( $M_{w\ high}$ ) и среднюю молекулярную массу 10% низкомолекулярной фракции ( $M_{w\ low}$ ).

*Критерии пригодности системы.* Тест на пригодность считается выполненным, если:

1.  $M_w = 41\ 000 - 47\ 000$  у.е.
2.  $M_{w\ high} = 110\ 000 - 130\ 000$  у.е.
3.  $M_{w\ low} = 6\ 000 - 8\ 500$  у.е.

#### 1.5. Проведение анализа субстанции декстрана 40

Хроматографируют испытуемый раствор. Используя рассчитанные величины  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_3$ ,  $b_4$  и  $b_5$  и уравнения (2-3), рассчитывают величины  $M_w$ ,  $M_{w\ high}$  и  $M_{w\ low}$ .

*Критерии качества субстанции:*

1.  $M_w = 35\ 000 - 45\ 000$  у.е.
2.  $M_{w\ high} \leq 110\ 000$  у.е.
3.  $M_{w\ low} \geq 7\ 000$  у.е.

## 2. Обсуждение подхода ЕФ

### 2.1. Условия хроматографирования

#### 2.1.1. Используемые колонки

Методика ЕФ допускает использование колонок с различными сорбентами (*поперечно-сшитая агароза для хроматографии Р* или *полиэфирный гидроксилированный гель для хроматографии Р*). Предложенные типы сорбентов можно рассматривать как рекомендуемые и не охватывающие все возможные случаи, поскольку главный критерий их приемлемости — это требования к калибровке и пригодности системы. Отметим, что декстраны являются «удобными» хроматографическими объектами, и стандарты декстранов используются для определения ММР практически со всеми сорбентами, совместимыми с водными подвижными фазами. Так, ведущие фирмы-производители используют для определения ММР декстранов современные колонки, отличные от указанных в ЕФ. В частности, фирмы «Фармакосмос» (Дания) [11] и «Биотика АО» (Словакия) [4-5] используют стирол-дивинилбензолные колонки TSK gel PW. ЕФ для разделения глобулярных проте-

инов с интервалом масс от 10 000 до 500 000 в иммуноглобулинах использует обычный гидрофильный силикагель [12]. Нет никаких противопоказаний и для использования, например, диольных колонок. Естественно, изменение колонки требует проведения валидации методики.

Число колонок также варьируется: фирма «Биотика АО» (Словакия) использует 2 соединенные колонки с предколонкой [2, 4], а фирма «Фармакосмос» (Дания) — 5 [11].

#### 2.2.2. Подвижная фаза

В методике ЕФ в качестве подвижной фазы (ПФ) используется солевой раствор (натрия сульфата) с антимикробным консервантом хлорбутанолом. Методика ЕФ применяется только для контроля ММР в субстанции декстран 40, которую при анализе растворяют в подвижной фазе. Однако основным конечным продуктом является препарат «Реополиглюкин» - 10 % раствор декстрана 40 в 0.9 % водном растворе натрия хлорида, в котором (в силу важности показателя) также контролируется ММР. Поэтому для осуществления сквозного контроля (ММР в декстране и препарате «Реополиглюкин», естественно, одинаковое) предпочтительнее использовать единую методику определения ММР в декстране 40 и препарате «Реополиглюкин». Поскольку для детектирования используется рефрактометрический детектор, применение ПФ с натрия сульфатом для препарата «Реополиглюкин», содержащего натрия хлорид, может вызвать системные эффекты. Учитывая, что и колонки могут быть разными (см. выше), естественно коррективировка состава ПФ.

Тезис авторов [4] об опасности коррозии деталей хроматографа при применении ПФ с хлорид-ионами основывается на устаревших данных двадцатилетней давности. Капилляры и колонки из специальных марок нержавеющей стали, применяемые в современных хроматографах при использовании соответствующих приемов работы (постоянное движение ПФ через систему, промывка водой или другими растворами после окончания исследований), сегодня дают возможность использовать ПФ, содержащие натрия хлорид, для рутинных анализов методом ВЭЖХ, например препаратов иммуноглобулинов в Европейской Фармакопее [12] и гармонизованной с ней Британской Фармакопее.