

У. А. Мурашова, Л. В. Скалкина, П. В. Казаков, Н. С. Мирзабекова*

РАЗРАБОТКА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОСТОРОННИХ ПРИМЕСЕЙ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ СУБСТАНЦИИ ТРАМАДОЛА ГИДРОХЛОРИДА

Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии, Россия, Москва.

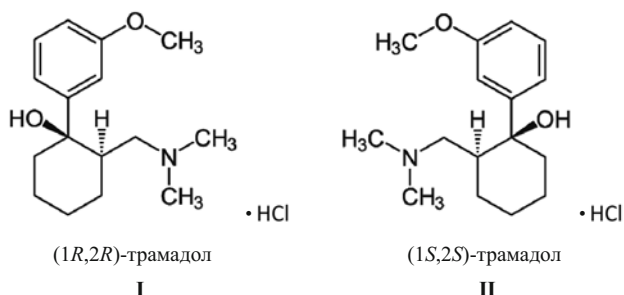
* e-mail: dir@gosniokht.ru

Разработаны методики определения посторонних примесей в отечественной субстанции трамадола гидрохлорида. Для обнаружения *RS,SR*-изомера в субстанции трамадола гидрохлорида предложен метод ВЭЖХ с УФ-детектированием. Для определения примеси (*2RS*) [(диметиламино)метил]циклогексанона предложен метод хроматографии в тонком слое сорбента на пластинках "Sorbfil" F₂₅₄. Проведена валидация методики ВЭЖХ по показателям эффективность, линейность и воспроизводимость. Чувствительность обнаружения примеси составила 0,0001 мг/см³ (0,02 %).

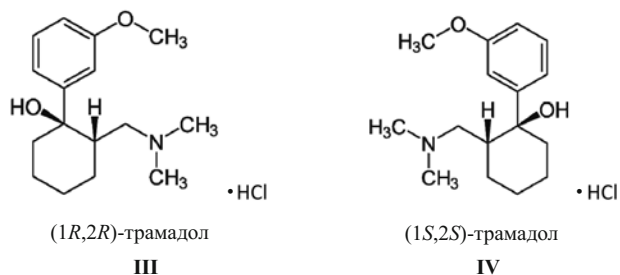
Ключевые слова: трамадола гидрохлорид; *RS,RS*- и *RS,SR*-изомеры; (*2RS*)-[(диметиламино)метил]циклогексанон; ВЭЖХ; ТСХ.

Трамадола гидрохлорид как анальгезирующее средство со смешанным механизмом действия применяется при болевом синдроме средней и сильной интенсивности (в том числе при злокачественных новообразованиях, травмах, в послеоперационном периоде) [1, 2].

Трамадола гидрохлорид представляет собой рацемическую смесь 2 энантиомеров — (*1RS,2RS*)-2-[(диметиламино)метил]-1-(3-метоксифенил)-циклогексан-1-ола гидрохлорид (**I**, **II**).

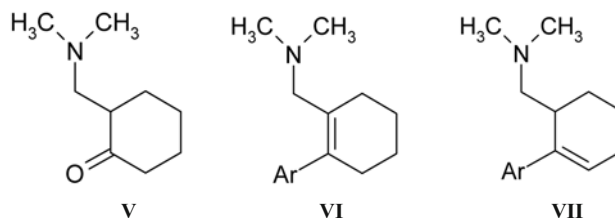


Одной из основных примесей в отечественной фармакопейной статье на субстанцию трамадола гидрохлорида [3], а также в зарубежных фармакопеях [4, 5] указывается (*1RS,2SR*)-2-[(диметиламино)метил]-1-(3-метоксифенил)-циклогексан-1-ола гидрохлорид (**III**, **IV**) — структурный изомер трамадола гидрохлорида (далее — *RS,SR*-изомер).



В Европейской фармакопее [5] также указаны другие возможные примеси в субстанции трамадола гидрохлорида — исходный продукт в синтезе трамадола —

(*2RS*)-2-[(диметиламино)метил]циклогексанон (далее — ДМЦ) (**V**), примеси [2-(3-метоксифенил)циклогексен-1]-*N,N*-диметилметанамина (далее — 1,2-олефин) (**VI**) и [2-(3-метоксифенил)циклогексен-2]-*N,N*-диметилметанамина (далее — 1,6-олефин) (**VII**).



Для определения трамадола гидрохлорида в лекарственных препаратах предложен [7 – 11] метод ВЭЖХ с применением УФ-детектирования с разделением исследуемых веществ на обращенно-фазных колонках. Предложено [10] использовать колонку *m*-Bondapak C18 (3,9 × 150 мм), подвижную фазу – 17 % ацетонитрил в 0,01 М фосфатном буферном растворе (рН 5,5), детектирование при длине волны 230 нм. При этих условиях время удерживания трамадола составляет 8 мин. Для определения трамадола в фармацевтических композициях в работе [11] применяется колонка, заполненная модифицированным октадецилсиликагелем, размером 250 × 4,6 мм, с размером частиц твердой фазы 5 мкм, обнаружение при длине волны 272 нм, подвижная фаза – смесь ацетонитрила с 1 % ледяной уксусной кислотой (50:50 по объему), время удерживания трамадола составляет 2,032 мин.

В Американской фармакопее [4] для определения посторонних примесей в субстанции трамадола гидрохлорида предложено использовать подвижную фазу – смесь 0,2 % трифторуксусной кислоты с ацетонитрилом (70:30), обнаружение при длине волны 270 нм. Похожая подвижная фаза описана в отечественной фармакопейной статье на трамадола гидрохлорид [3]:

ацетонитрил – трифторуксусная кислота – вода, 295:1,5:703,5; колонка заполнена октилсилил силикагелем, эндкепированным, деактивированным по отношению к основаниям, размером $25 \times 0,4$ см; 5 мкм. В качестве посторонней примеси регламентировано содержание *RS,SR*-изомера на уровне “не более 0,2 %”, суммарное содержание остальных возможных примесей – “не более 0,4 %”.

Описан [12] новый высокопроизводительный жидкостной хроматографический метод определения в каплях трамадола гидрохлорида и вспомогательных веществ (сорбата калия, используемого в качестве консерванта, и сахарината натрия, используемого в качестве подсластителя). Разделение проводили на колонке С (18) XTerra ($150 \times 4,6$ мм, 5 мкм), используя ацетонитрил (0,015 М) и буферный раствор Na_2HPO_4 (2:8 об./об.) в качестве подвижной фазы (значение pH 3,0 регулировали с помощью ортофосфорной кислоты) при скорости потока 1,0 мл/мин и детектировании при 218 нм.

Ряд работ посвящен определению примесей в трамадоле с использованием метода ТСХ [3, 13, 14].

Для определения трамадола в лекарственных препаратах [13] используют элюент – смесь этилацетата, метанола и 25 % аммиака, взятых в соотношении 85:10:5, а в качестве подвижной фазы [3] предложено использовать смесь 32 % аммиака, 2-пропанола и толуола в соотношении 1:19:80. Анализ проводят на пластинках со слоем силикагеля.

В результате исследования различных партий отечественной субстанции трамадола гидрохлорида [6] методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором было показано наличие только 2 примесей – исходного ДМЦ и *RS,SR*-изомера.

Целью настоящего исследования стала разработка методик анализа субстанции трамадола гидрохлорида на содержание примесей *RS,SR*-изомера и исходного ДМЦ с использованием методов ВЭЖХ с УФ детектированием и ТСХ, а также оценка их чувствительности, точности и воспроизводимости.

Экспериментальная часть

В работе использовали: субстанцию трамадола гидрохлорида, исходный ДМЦ и *RS,SR*-изомер производства ФГУП “ГосНИИОХТ”, ацетонитрил кат. № 1.00030.2500 и трифторуксусную кислоту кат. № 8.08260.0100 фирмы “Merck”, хлороформ по ГОСТ 20015–88, метанол по ГОСТ 6995–77, толуол по ГОСТ 5789–78, этилацетат по ГОСТ 22300–76, *n*-бутиловый спирт по ГОСТ 5208-2013, кислоту муравьиную по ГОСТ 5848–73, аммиак водный по ГОСТ 3760–79, ацетон по ГОСТ 2768–84.

Методику ВЭЖХ разрабатывали на жидкостном хроматографе фирмы Knauer (Германия) с программой компьютерной обработки экспериментальных данных Eurochrom HPLC Software Version 2.5 с УФ-детектором. В работе применяли хроматографическую колон-

ку “Eurospher 100-5 C18” (100×4 мм; 5 мкм), температура колонки (20 ± 5) °С.

При разработке методики ТСХ определения примесей применяли пластинки размером 100×100 мм “Kieselgel” F_{254} фирмы “Merck” (производство Германия) и “Sorbfil” F_{254} (производство Россия). Использовали весы лабораторные XS 105 DU “Mettler Toledo”.

Методика анализа. Для приготовления испытуемого раствора около 0,0125 г трамадола гидрохлорида помещали в мерную колбу вместимостью 25 см³, доводили подвижной фазой до метки и перемешивали.

С целью определения разделяющей способности колонки брали 2 навески *RS,RS*- и *RS,SR*-изомеров по 0,0125 г, помещали в мерную колбу вместимостью 25 см³, доводили подвижной фазой до метки и перемешивали.

Для определения чувствительности обнаружения *RS,SR*-изомера методом ВЭЖХ готовили его растворы концентрацией $1 \cdot 10^{-7}$ – $5 \cdot 10^{-7}$ г/см³.

Для анализа методом ТСХ были приготовлены следующие растворы: 5 % раствор трамадола гидрохлорида в метаноле; 0,025 и 0,5 % растворы исходного ДМЦ в метаноле.

Хроматографирование проводили восходящим методом. На линию старта пластинки наносили:

10 мкл (500 мкг) 5 % раствора трамадола гидрохлорида в метаноле;

2 мкл (10 мкг) 0,5 % раствора ДМЦ в метаноле;

1 мкл (0,25 мкг); 2 мкл (0,5 мкг); 4 мкл (1,0 мкг); 8 мкл (2,0 мкг) 0,025 % раствора ДМЦ в метаноле.

Пластинку с нанесенными пробами сушили на воздухе и затем помещали в предварительно насыщенную камеру со смесью растворителей. Когда фронт растворителей проходил расстояние 8 см от линии старта, пластинку вынимали из камеры и сушили на воздухе до отсутствия запаха растворителей, затем опрыскивали реактивом Драгендорфа (модифицированным).

Результаты и их обсуждение

По технологии получения основания трамадола в результате взаимодействия (2*RS*)-2[(диметиламино)метил]циклогексанона с *m* анизилмагний бромидом образуется смесь *RS,RS*- и *RS,SR*-изомеров 2-[(диметиламино)метил]-1-(3-метоксифенил)циклогексан-1-ола [6].

Согласно [15], *RS,SR*-изомер на порядок менее активен, чем *RS,RS*-изомер, его содержание в субстанции ограничивается 0,2 %.

Определение примеси *RS,SR*-изомера в субстанции трамадола гидрохлорида методом ВЭЖХ. При разработке ВЭЖХ методики разделения *RS,RS*- и *RS,SR*-изомеров детектирование вели при длине волны 270 нм, в качестве подвижных фаз использовали смеси ацетонитрила и метанола с различными водными буферными растворами (фосфатный, ацетатный), в некоторых случаях добавляли кислоты (фосфорную, уксусную, трифторуксусную) для корректировки pH элюента и лучшего разделения компонентов пробы.

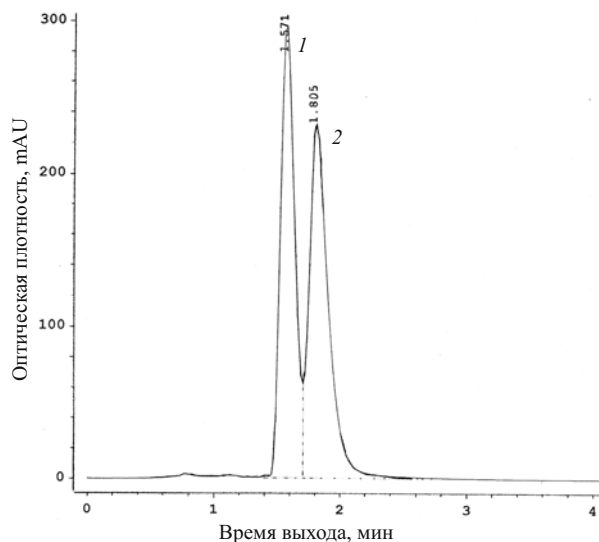


Рис. 1. Хроматограмма дистереоизомеров 2-[(диметиламино)метил]-1-(3-метоксифенил)-циклогексан-1-ола гидрохлорида (методика, описанная в отечественной и зарубежных фармакопеях): 1 – *RS,SR*-изомер; 2 – *RS,RS*-изомер.

Показано, что при использовании буферных растворов, а также добавок фосфорной и уксусной кислот дистереоизомеры выходят одним неразделенным пиком. При использовании подвижной фазы, описанной в работах [3 – 5], с применением трифторуксусной кислоты удалось разделить *RS,RS*- и *RS,SR*-изомеры, однако разделение было неудовлетворительное (рис. 1). Для корректировки разделения изомеров были исследованы различные концентрации трифторуксусной кислоты, а также соотношения ацетонитрила к водному раствору кислоты.

Оптимальное разделение при времени выхода *RS,SR*-изомера – 5,336 мин, а *RS,RS*-изомера – 6,970 мин наблюдалось при использовании подвижной фазы – смесь ацетонитрила с 0,4 % раствором трифторуксусной кислоты, взятых в соотношении 20:80. Скорость потока подвижной фазы при этом была равна 1 см³/мин. Объем пробы составил 20 мкл.

Коэффициент разделения стереоизомеров трамадола гидрохлорида составил 5,4. В соответствии с рекомендациями Международной комиссии по гармонизации к валидации аналитических методик (ICH) [16, 17] коэффициент разделения между 2 пиками должен составлять не менее 2. Методика показала хорошее разделение изомеров трамадола гидрохлорида.

На рис. 2 представлена хроматограмма разделения *RS,RS*- и *RS,SR*-изомеров в указанных условиях проведения анализа.

Полученные параметры хроматографического разделения представлены в табл. 1.

В соответствии с данными, представленными в табл. 1, можно оценить пригодность разработанной хроматографической методики. В качестве критериев пригодности хроматографической системы использовали следующие показатели: эффективность хроматографической колонки (N) и коэффициент асимметрии пика (T). Эффективность хроматографической систе-

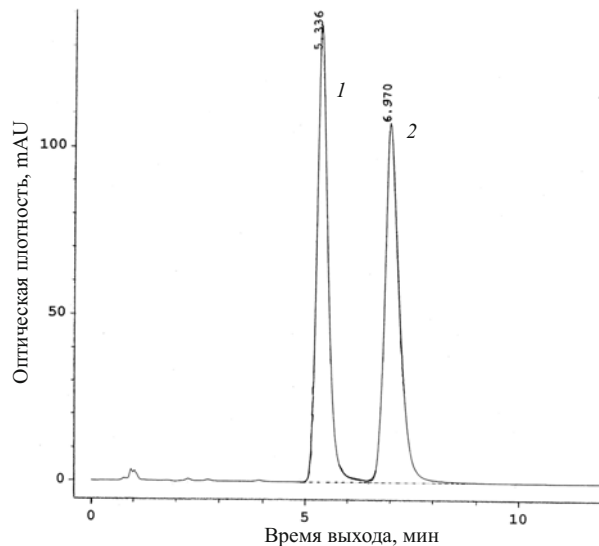


Рис. 2. Хроматограмма дистереоизомеров 2-[(диметиламино)метил]-1-(3-метоксифенил)-циклогексан-1-ола гидрохлорида (предлагаемая нами методика): 1 – *RS,SR*-изомер; 2 – *RS,RS*-изомер.

мы по пикам изомеров составила более 2000 теоретических тарелок, а фактор асимметрии – 1,517 и 1,521, что соответствует рекомендациям ICH [16, 17].

Фактор отклика детектора составил для *RS,SR*-изомера – 0,97, для *RS,RS*-изомера – 1,00.

В соответствии с разработанной методикой содержание примеси *RS,SR*-изомера X (%) вычисляют с учетом величины отклика сигнала детектора по формуле:

$$X = \frac{S_i \cdot F_i}{S_t \cdot F_t} \cdot 100,$$

где S_i – площадь пика примеси; F_i – фактор отклика сигнала детектора примеси; S_t – площадь пика трамадола гидрохлорида; F_t – фактор отклика сигнала детектора трамадола гидрохлорида.

Определение линейности методики проводили на 8 уровнях концентраций трамадола гидрохлорида в воде (0,0005; 0,001; 0,005; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1 мг/см³). Данный диапазон позволил охватить область измерений на уровне чувствительности количественного определения примесей в субстанции, рабочие концентрации анализируемых растворов, а также возможные отклонения концентраций трамадола гидрохлорида как в большую, так и в меньшую сторону. В связи с этим охваченный нами диапазон концентраций для проверки линейности считаем приемлемым.

Ввод каждого раствора проводили не менее 3 раз. Рассчитывали средние значения площадей пиков и строили кривую зависимости площади пика от концентрации вещества в растворе. На рис. 3 представлена зависимость аналитического сигнала (площадь пика) от концентрации вещества.

Коэффициент корреляции, который является критерием линейной зависимости между концентрацией и площадью пика, составил 0,9999, что говорит о соблю-

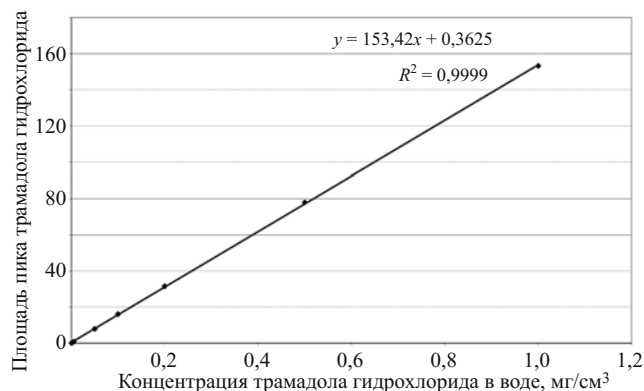


Рис. 3. Зависимость аналитического сигнала (площадь пика) от концентрации трамадола гидрохлорида в воде.

дении линейности в анализируемом диапазоне концентраций.

Предел количественного определения примеси *RS,SР*-изомера в субстанции трамадола гидрохлорида составил 0,0005 мг/см³, что соответствует концентрации 0,1 %. Для сравнения в отечественной фармакопейной статье на трамадола гидрохлорид указана чувствительность 0,2 %. На рис. 4 представлена хроматограмма модельной смеси субстанции трамадола гидрохлорида с добавлением 0,1 % раствора примеси *RS,SР*-изомера. Показано, что на таких низких концентрациях пики хорошо разделены, что позволяет использовать разработанную нами методику для оценки чистоты субстанции трамадола гидрохлорида.

Минимальную концентрацию, при которой примесь может быть достоверно обнаружена, определяли в соответствии с рекомендациями ICH, исходя из соотношения аналитического сигнала к фоновому шуму (3:1). При данном соотношении предел обнаружения *RS,SР*-изомера составил 0,0001 мг/см³ (0,02 %).

В работе представлена внутрилабораторная воспроизводимость, полученная в одной и той же лаборатории разными аналитиками при анализе одного и того же раствора с интервалом в несколько дней.

Воспроизводимость метода оценивали при использовании растворов *RS,RS*- и *RS,SР*-изомеров концентрацией $5 \cdot 10^{-4}$ г/см³ в воде. В качестве критериев оценки использовали величину стандартного отклонения и доверительный интервал.

Таблица 1
Хроматографические параметры разделения дистереоизомеров 2-[(диметиламино)метил]-1-(3-метоксифенил)циклогексан-1-ола

Соединение	Время выхода, мин	Площадь пика, mAU · мин	Высота пика, mAU	Площадь пика, % от всех площадей	Ширина пика, мин	Фактор асимметрии (Т-фактор)	Количество теоретических тарелок (N)
<i>RS,SР</i> -изомер	5,336	41,2535	136,695	49,2495	0,262	1,517	2292,9
<i>RS,RS</i> -изомер	6,970	42,5109	107,522	50,7505	0,343	1,521	2285,1

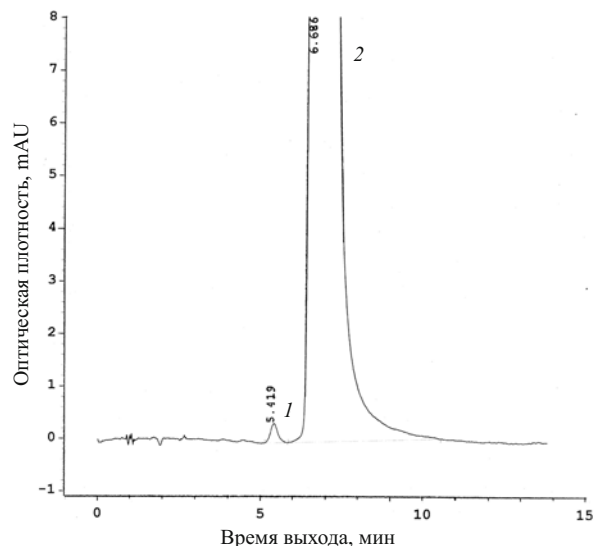


Рис. 4. Хроматограмма модельной смеси субстанции трамадола гидрохлорида с добавлением 0,1 % раствора примеси *RS,SР*-изомера: 1 – *RS,SР*-изомер; 2 – *RS,RS*-изомер.

В устройство ввода жидкостного хроматографа вводили последовательно равные объемы растворов. Ввод повторяли 10 раз. На хроматограмме регистрировали площади пиков веществ. Результаты анализа представлены в табл. 2.

Таблица 2
Статистическая обработка данных по определению площадей пиков *RS,RS*- и *RS,SР*-изомеров трамадола гидрохлорида

№ опыта	Оператор 1		Оператор 2	
	площадь пика			
	<i>RS,SР</i> -изомера	<i>RS,RS</i> -изомера	<i>RS,SР</i> -изомера	<i>RS,RS</i> -изомера
1	41,37	42,55	41,60	42,68
2	41,08	42,38	41,53	42,44
3	41,29	42,38	41,52	42,72
4	41,35	42,61	41,47	42,70
5	41,34	42,23	41,68	42,35
6	41,72	42,37	41,19	42,50
7	41,19	42,15	41,53	42,79
8	41,24	42,54	41,36	42,38
9	41,50	42,29	41,40	42,47
10	41,44	42,42	41,43	42,53
Среднее значение	41,352	42,392	41,471	42,556
Стандартное отклонение	0,177	0,146	0,136	0,155
Стандартное отклонение среднего результата	0,056	0,046	0,043	0,049
Относительная погрешность отдельной варианты (ε), %	0,95	0,77	0,73	0,81
Относительная погрешность среднего результата (ε _{ср}), %	0,30	0,24	0,23	0,26
Доверительный интервал среднего значения	41,052 ≤ μ ≤ 41,652	42,152 ≤ μ ≤ 42,632	41,241 ≤ μ ≤ 41,701	42,296 ≤ μ ≤ 42,816

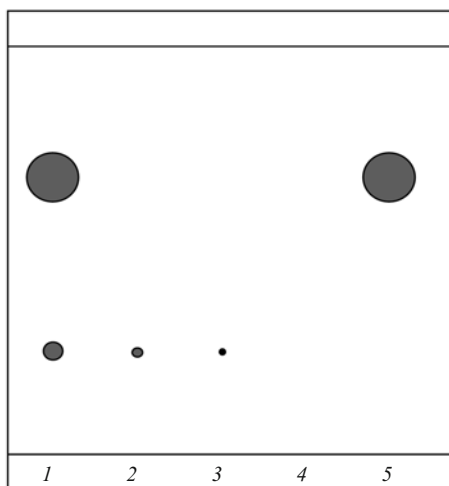


Рис. 5. Схема хроматографического разделения трамадола гидрохлорида и ДМЦ: 1 – искусственная смесь трамадола гидрохлорида и 1 % раствора ДМЦ в метаноле; 2 – 0,025 % раствор ДМЦ в метаноле (2,0 мкг); 3 – 0,025 % раствор ДМЦ в метаноле (0,5 мкг); 4 – 0,025 % раствор ДМЦ в метаноле (0,25 мкг); 5 – 5 % раствор трамадола гидрохлорида в метаноле (500 мкг).

В обоих случаях величины относительной погрешности определения не превышали 1 %, что говорит о хорошей воспроизводимости метода. Величина доверительных интервалов также свидетельствует об удовлетворительной разрешающей способности метода.

Определение примеси (2RS) 2-[(диметиламино)метил]циклогексана методом ТСХ. ДМЦ не поглощает в УФ области спектра, поэтому его определение при помощи метода ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием затруднительно. Для определения ДМЦ в субстанции трамадола гидрохлорида использовали метод ТСХ, предложенный в работах [3, 13, 14].

При разработке методики ТСХ определения примеси в качестве сорбента был применен силикагель на пластинках “Sorbfil” F₂₅₄ (Россия) и “Kieselgel” F₂₅₄ Merck (Германия). В качестве подвижных фаз были использованы системы растворителей как с кислой, так и с щелочной реакцией.

Таблица 3
Факторы удерживания R_f трамадола гидрохлорида и ДМЦ на пластинках “Sorbfil” F₂₅₄ в различных системах растворителей

№	Подвижная фаза	R _f	
		трамадола гидрохлорида	ДМЦ
1	Хлороформ – толуол – метанол – 25 % раствор аммиака (25:10:10:1)	0,58	0,45
2	Этилацетат – метанол – 25 % раствор аммиака (60:40:1)	0,55	0,41
3	Этилацетат – метанол – 25 % раствор аммиака (85:10:1)	0,62	0,46
4	Этилацетат – <i>n</i> -бутиловый спирт – ацетон – 25 % раствор аммиака (14:4:2:0,5)	0,60	0,32

В результате ряда опытов установлено, что при использовании в качестве подвижной фазы системы растворителей с кислой реакцией, например, ацетон – метанол – кислота муравьиная в соотношении 50:50:1, на пластинке “Kieselgel” F₂₅₄ наблюдается хорошее хроматографическое разделение, пятна круглой формы, R_f трамадола гидрохлорида – 0,44; R_f ДМЦ – 0,20. На пластинках “Sorbfil” F₂₅₄ при использовании той же системы растворителей пятна были размыты, и точное определение R_f оказалось невозможным. При использовании в качестве подвижной фазы системы растворителей с щелочной реакцией наблюдаются четкие пятна округлой формы как на пластинке “Kieselgel” F₂₅₄, так и на пластинке “Sorbfil” F₂₅₄. Мы остановили свой выбор на отечественной пластинке, и в дальнейшем подбирали подвижную фазу щелочного характера для обеспечения наилучшего хроматографического разделения компонентов. В табл. 3 приведены результаты хроматографического разделения трамадола гидрохлорида и ДМЦ на пластинках “Sorbfil” F₂₅₄.

Как видно из табл. 3, наилучшее хроматографическое разделение наблюдается при использовании подвижной фазы этилацетат – *n*-бутиловый спирт – ацетон – 25 % раствор аммиака (14:4:2:0,5). Для определения чувствительности обнаружения ДМЦ на пластинку наносили пробы, содержащие 2,0; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг ДМЦ в метаноле и хроматографировали в выбранных условиях. Минимально определяемое количество примеси составляет 0,5 мкг (0,1 %), что удовлетворяет требованиям ведущих фармакопей (0,2 %).

Для проверки хроматографического разделения ДМЦ и трамадола гидрохлорида была приготовлена искусственная смесь, содержащая трамадола гидрохлорид и 1 % раствор ДМЦ.

На рис. 5 представлена схема хроматографического разделения трамадола гидрохлорида и ДМЦ в выбранных условиях.

Для проверки возможности использования метода ТСХ для разделения стереоизомеров трамадола гидрохлорида на пластинку “Sorbfil” F₂₅₄ наносили 10 мкл (500 мкг) 5 % растворов *RS,RS*- и *RS,SR*-изомеров трамадола гидрохлорида в метаноле. В качестве элюента использовали выбранную нами систему растворителей.

При проявлении реактивом Драгендорфа модифицированным оказалось, что R_f изомеров одинаков и составляет 0,62, поэтому использование ТСХ для разделения изомеров не представляется возможным.

Таким образом, разработанные методики могут быть использованы для контроля качества субстанции трамадола гидрохлорида.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая волна, Москва (2012).
2. World Health Organisation, *Critical Review Report: Tramadol*, 41th Meeting ECDD, Ed. Geneva (2018), p. 51.
3. *Государственная фармакопея Российской Федерации, Трамадола гидрохлорид*, XIV изд., т. III, 4933 – 4938 (1998).

4. *The United States Pharmacopeia*, Tramadol Hydrochloride, USP 36-NF 31 (2013).
5. *European Pharmacopoeia*, Tramadol Hydrochloride, 9.0th ed. (2017).
6. Патент РФ 2165922; *Бюл. изобрет.*, № 12 (2001).
7. Y. Rajendraprasad, K. K. Rajasekhar, V. Shankarananth, et al., *J. Pharm. Research.*, **4**(3), 886 – 887 (2011).
8. W. F. Kartinasari, T. Palupi, G. J. Indrayanto, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **27**, 737 – 744 (2004).
9. Md. Gousuddin, P. Sengupta, B. Chatterjee, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **40**, 887 – 893 (2017).
10. I. Y. Zaghloul, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **20**(5), 779 – 787 (1997).
11. K. T. Hemant, P. C. Krishna, R. K. Varaprasad, et al., *GSC Biol. Pharm. Sci.*, **08**(01), 089 – 097 (2019).
12. M. Zecević, Z. Stanković, L. Zivanović, B. Jocić, *J. Chromatogr. A.*, **1119**(1 – 2), 251 – 256 (2006).
13. H. Schuetz, A. Pielmeyer, G. Weiler. *Arzneim-Forsch.*, **36**(5), 113 – 123 (1990).
14. T. Daldrup, A. Rickert, *J. Anal. Chem.*, **334**(4), 349 – 353 (1989).
15. E. Frankus, E. Friderichs, S. M. Kim, G. Osterloh, *Aerzt. Lab.*, **28**(1a), 114 – 121 (1978).
16. ICH Q2 (R1), *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology* (2005).
17. ICH Q2B, *Validation of Analytical Procedures: Methodology* (1996).

Поступила 19.06.20

DEVELOPMENT OF CHROMATOGRAPHIC TECHNIQUES FOR DETERMINING EXTRANEIOUS IMPURITIES IN DOMESTIC PARENT SUBSTANCE OF TRAMADOL HYDROCHLORIDE

U. A. Murashova¹, L. V. Skalkina¹, P. V. Kazakov¹, and N. S. Mirzabekova^{1,*}

¹ State Research Institute of Organic Chemistry and Technology, Federal Scientific Center, Moscow, 111024 Russia

* e-mail: dir@gosniokht.ru

Methods have been developed for the determination of undesired impurities in the domestic parent substance of tramadol hydrochloride. To detect the *RS,SR*-isomer impurity in tramadol hydrochloride, a method of high performance liquid chromatography with ultraviolet detection is used. To determine the impurity of *(2RS)*-2-[(dimethylamino)methyl]cyclohexanone, a thin-layer chromatography method is used on Sorbfil F_{2S4} plates. The HPLX method was validated in respect of its efficiency, linearity, and reproducibility. Sensitivity of the proposed method amounted to 0.0001 mg/cm³ (0.02%).

Keywords: tramadol hydrochloride; *RS,RS*-isomer; *RS,SR*-isomer; *(2RS)*-2-[(dimethylamino)methyl]cyclohexanone; HPLC; TLC.