

THE APPRAISAL OF QUANTITATIVE CONTROL OF PRODUCTION OF THYMIDINE WITH THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY METHOD

TIMIDĪNA RAŽOŠANAS KVANTITATĪVĀS KONTROLES NOVĒRTĒJUMS AR PLĀNSLĀŅU HROMATOGRĀFIJAS METODI

Anna Zemcova, Vera Fadejeva
 "OlainFarm", analytical laboratory,
 Modris Drille
 Riga Technical University

Summary

This work is dedicated to study of the possibility of control of every stage of production of thymidine and corresponding semi-products by methods of thin-layer chromatography (TLC). In change from other methods of the analysis the method TLC has variety of advantages (simultaneous separation several samples, low cost of the analysis and other). It was disposed that for separation the most optimum are systems, consisting of two components – acetonitrile and water (10:1). Analysis of compounds were realized on plates Silicagel 60 F₂₅₄ company Merck.

Farmācijas līdzekļu ražošanas procesā nepieciešama sintēzes procesa pastāvīga analītiskā kontrole, analizējot gan stapproduktu, gan gala produktu sastāvu. To var veikt ar dažādām analītiskām metodēm, bet prasība ir to veikt ātri un ar atbilstošu precizitāti. Kā vienu no tādām var izmantot plānā slāņa hromatogrāfiju.

Šajā darbā dots plānā slāņa hromatogrāfijas metodes novērtējums, to izmantojot timidīna ražošanas kvantitatīvai kontrolei. Timidīna sintēze notiek astoņās stadijās, katras starpstadijas produktus nepieciešams kvantitatīvi novērtēt. Tā kā reakcijas masa sastāv no vairākiem komponentiem, tad plānā slāņa hromatogrāfija ir atbilstoša analīzes metode.

Eksperimentālā darba gaitā izmantotas firmas *Chemprosa Holding AG* standartvielas ar tīrības pakāpi ne mazāku par 98,0 %:

- 1,2;5,6-di-o-izopropilidēn- α -D-glikofuranoze (DAG);
- 1,2;5,6-di-o-izopropilidēn-3-o-metilsulfonil- α -D-glikofuranoze (mezil-DAG);
- 3-o-metilsulfonil-D-glikopiranoze (mezil-glikoze);
- 2-dezoksi-D-riboze; butil-2-dezoksi- α -D-ribofuranozīds;
- butil-2-dezoksi-3,5-di-o-(4-metilbenzoil)-D-ribofuranozīds;
- 2-dezoksi-3,5-di-o-(4-metilbenzoil)-D-ribofuranozilhlorīds (halogenoze);
- timīns; 3',5'-di-o-(4-metilbenzoil)-timidīns (ditotim); timidīns.

Vislabākais sadalījums, raksturojošais R_f , iegūto plankumu forma un sadalīšanas laiks sasniegti, izmantojot sistēmu acetonitrils : ūdens – 10 : 1.

Hromatografēšana veikta uz firmas Merck plāksnītēm Silicagel 60 F₂₅₄ ar uznesuma biezumu 0,2 cm. Parauga uznešanai izmantoti aplikātors Nanomat III un kalibrēti kapilāri ar tilpumu 2 μ l. Hromatografēšana izvēlētā šķīdinātāju sistēmā noritēja ar augšupejošās hromatogrāfijas metodes palīdzību. Par attīstīšanas reaģentu izmantots 0,2 % rezorcīna šķīdums etilspirtā ar fosforskābes piedevu. Plāksnīti apsmidzina ar attīstītāja šķīdumu un karsē 110 - 120 °C temperatūrā 10 – 15 minūtes līdz parādās krāsaini plankumi. Hromatogrammas vielas plankumā tās daudzumu nosaka ar densitometra palīdzību (PSH-skeneris-3, Šveices firma CAMAG).

Rezorcīns ar cukuru atvasinājumiem, minerālskābes klātbūtnē karsējot, var veidot dažādus savienojumus no gaiši līdz tumši rozā vai brūnā krāsās. Pie tam hromatogrammas fons paliek gaišs un nerada traucējumus densitometra mērījumiem.

Mērījumi veikti 430 \pm 5 nm robežās.

Standartvielu analīzes veiktas dažādās sēriju robežās: \pm 20%, \pm 40%, +80% ar vielas daudzumu 0,5 μ g, kas pieņemts kā 100% (piemērs dots 1. tabulā).

Tabula 1. Densitometrijas rezultāti rezorcīna kompleksajam savienojumam ar 2-dezoksi-D-ribozi.
 (H – absorbcijas maksimuma augstums, S – absorbcijas maksimuma laukums)

	Parauga daudzums	1.paraugs H/S	2.paraugs H/S	3.paraugs H/S	H _{vid.}	S _{vid.}
+ 80%	0,9 μ g	0,940 / 0,962	0,921 / 0,943	0,910 / 0,928	0,924	0,944
+ 40%	0,7 μ g	0,697 / 0,718	0,712 / 0,731	0,723 / 0,735	0,711	0,728
+ 20 %	0,6 μ g	0,616 / 0,633	0,614 / 0,647	0,621 / 0,638	0,617	0,639
100 %	0,5 μ g	0,508 / 0,515	0,492 / 0,528	0,512 / 0,526	0,504	0,523
- 20 %	0,4 μ g	0,387 / 0,431	0,392 / 0,427	0,415 / 0,389	0,398	0,416
- 40 %	0,3 μ g	0,306 / 0,282	0,309 / 0,311	0,296 / 0,314	0,304	0,302

Metodes maksimāli iespējamā kļūda = 7,6 %.

Eksperimentāli iegūtos rezultātus apstrādājot, ir noteikts, ka darba diapazonā no 0,2 µg līdz 1,0 µg lineārā sakarība nosakāmajiem parametriem saglabājas.

Anna Zemtsova, doktoral student.

Riga Technical University,

Address: Azenes street 14, LV-1048, Riga, Latvia

Phone: + 371 9690518

E – Mail: z.anna@td.lv

Vera Fadeyeva, head of analytical laboratory.

'OlainFarm'

Address: Rupnicu street 5, LV-2114, Olaine, Latvia

Phone: + 371 7013974, + 371 9968111