

ANALYSIS OF BACLOFEN ENANTIOMERS AND IMPURITY A BY CHIRAL CAPILLARY ELECTROPHORESIS

SUPHUTCHARASA PLOYNGAM 4836161 PYPP/ M

M.Sc. (PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: LEENA SUNTORNSUK, Ph.D.,
NONGLUCK RUANGWISES, Ph.D.

ABSTRACT

Baclofen, the selective GABA_B receptor agonist, is used as a muscle relaxant for the treatment of spasticity associated with spinal cord injury. It is commercially available as a racemic mixture but only baclofen *R*-(-)-enantiomer is stereospecifically active. Additionally, (4*RS*)-4-(4-chlorophenyl)pyrrolidin-2-one is an important impurity in the synthesis and degradation pathway of baclofen. Analysis of baclofen enantiomers and its impurity is, therefore, important for the quality control of baclofen formulations. This research proposed a rapid and simple method for the simultaneous analysis of these compounds by chiral capillary electrophoresis (CCE). The CCE method was developed by varying buffer and chiral selector concentrations, pH of buffer, types of chiral selectors, amounts of organic solvents, temperature and voltage. α -Cyclodextrin was employed as a chiral selector, which enabled the separation of baclofen enantiomers. Dynamic coating of the capillary with 0.5% w/w polyethylene oxide (PEO) was necessary for the electroosmotic flow (EOF) suppression, which facilitated the separation of baclofen impurity. The optimized condition was in 100 mM sodium borate buffer (pH 9.9) containing 18 mM α -CD and 1% v/v acetonitrile using a fused-silica capillary dynamic coated with PEO, 64.5 cm total length with an effective length of 56 cm and inner diameter of 50 μ , hydrodynamic injection at 50 mbar for 6 s, temperature and applied voltage of 45 °C and 27 kV, respectively, and detection by UV absorbance at 220 nm. Baclofen enantiomers and its impurity were baseline separated (R_s = 2.7 and 44.8, respectively) in 10 min. The method was validated and the results showed good linearity ($r^2 > 0.9994$), precision (%RSD < 3.37%), and recovery (96-103.1%). The limits of detection and quantitation were 10 and 30 μ g/ml for *S*-enantiomer, 7 and 30 μ g/ml for *R*-enantiomer, and 2 and 5 μ g/ml for baclofen impurity, respectively. The method was successfully applied for the analysis of baclofen enantiomers and its impurity in pharmaceutical raw materials and pharmaceutical formulations.

KEY WORDS: ENANTIOSEPARATION/ BACLOFEN/ CHIRAL CAPILLARY
ELECTROPHORESIS

133 pages

การวิเคราะห์เอแนนทิโอเมอร์ของแบคโลเฟนและสารเจือปนโดยไครเรลแคปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส

ANALYSIS OF BACLOFEN ENANTIOMERS AND IMPURITY A BY CHIRAL
CAPILLARY ELECTROPHORESIS

สุพรรณษา พลอยงาม 4836161 PYPP/M

วท.ม. (เภสัชเคมีและพฤกษเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ลีณา สุนทรสุข, Ph.D., นงลักษณ์ เรืองวิเศษ, Ph.D.

บทคัดย่อ

แบคโลเฟนเป็นยาคลายกล้ามเนื้อในกลุ่มอนุพันธ์ของกรดแกมมาอะมิโนบูตริก (GABA) ออกฤทธิ์โดยจับกับ GABA_B receptor ในสมองและไขสันหลัง มีประสิทธิภาพในการรักษาการหดเกร็งของกล้ามเนื้อที่มีสาเหตุมาจากการบาดเจ็บของไขสันหลัง วัตถุประสงค์ที่ใช้ผลิตแบคโลเฟนอยู่ในรูปส่วนผสมระหว่างอาร์(-)- และเอส(+)-แบคโลเฟน แต่มีเพียงอาร์(-)-แบคโลเฟนเท่านั้นที่ออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา นอกจากนั้นในขบวนการสังเคราะห์และการเก็บรักษาแบคโลเฟนจะเกิดสารเจือปน คือ (4-อาร์เอส)-4-(4-คลอโรฟีนิล)ไพโรโรดีน-2-โอน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์และประเมินวิธีวิเคราะห์ในการแยกเอแนนทิโอเมอร์ของแบคโลเฟนและสารเจือปนโดยไครเรลแคปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ได้ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการแยกของสารทั้ง 3 ตัว ได้แก่ ชนิดของตัวคัดแยก (chiral selector) ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์และตัวคัดแยก ค่าพีเอชของบัฟเฟอร์ ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ อุณหภูมิและความต่างศักย์ไฟฟ้า จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ การใช้ 100 มิลลิโมลาร์ โซเดียมบอเรตบัฟเฟอร์ (พีเอช 9.9) ซึ่งประกอบด้วย 18 มิลลิโมลาร์ อัลฟา-ไซโคลเดกซ์ทรินและอะซิโตนไนไตรล์ (1% โดยปริมาตร) ความยาวของหลอดแคปิลลารีที่เคลือบด้วยโพลีเอทิลีนออกไซด์ (0.5% โดยน้ำหนัก) มีความยาวทั้งหมด 64.5 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 50 ไมครอน ใช้การฉีดแบบไฮโดรไดนามิกที่ 50 มิลลิบาร์เป็นเวลา 6 วินาที อุณหภูมิและความต่างศักย์ไฟฟ้าเท่ากับ 45 องศาเซลเซียส และ 27 กิโลโวลต์ ตามลำดับ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 220 นาโนเมตร สภาวะดังกล่าวสามารถแยกสารทั้ง 3 ตัวได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 10 นาที โดยมีค่าการแยกชัด (resolution) เท่ากับ 2.7 และ 44.8 ตามลำดับ การประเมินวิธีวิเคราะห์ให้ค่าความสัมพันธ์เส้นตรงที่ดี ($r^2 > 0.9994$) และค่าความแม่นยำที่ดี (%RSD < 3.37%) ค่าความถูกต้องอยู่ในช่วงร้อยละ 96.0-103.1 ค่าลิมิตการตรวจหาและการวิเคราะห์ปริมาณเท่ากับ 10 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับเอส(+)-แบคโลเฟน 7 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับอาร์(-)-แบคโลเฟน 2 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับ (4-อาร์เอส)-4-(4-คลอโรฟีนิล)ไพโรโรดีน-2-โอน ตามลำดับ วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นและผ่านการประเมินมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ปริมาณของแบคโลเฟนเอแนนทิโอเมอร์และสารเจือปนในวัตถุดิบและยาสำเร็จรูป