

Розробка методики кількісного визначення пірацетаму та цинаризину в капсулах «Цинатропіл»

В.А.Ханін, В.С.Кисличенко

Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук
Харків, Україна

На основі методу високоефективної хроматографії розроблена оригінальна методика кількісного визначення пірацетаму та цинаризину в складі капсул «Цинатропіл» при їх одночасній присутності.

Ключові слова: високоефективна рідинна хроматографія, пірацетам, цинаризин, капсули.

ВСТУП

Капсули «Цинатропіл» — це комбінований препарат, який складається з пірацетаму та цинаризину, що обумовлюють ноотропний, антигіпоксичний та судинорозширювальний ефекти.

З фармакологічної точки зору, створення такого комбінованого препарату є цілком доцільне, тому що кожний з компонентів підсилює дію і зменшує побічні ефекти один одного. Так, пірацетам зменшує втомлення і слабкість, які викликані цинаризином, а цинаризин — запаморочення, тремор, нервозність, збудження, роздратування, порушення сну, викликані пірацетамом [3, 5].

Ефективність будь-якого препарату визначається за його якісним складом та кількісним вмістом діючих речовин. Розробка методик для кількісного аналізу комбінованих препаратів супроводжується деякими труднощами. По-перше, проблема в різниці концентрацій діючих речовин і фізико-хімічних властивостях, по-друге, необхідність використання селективних методів.

Метою дослідження було розробити методику кількісного аналізу комплексного препарату «Цинатропіл» з використанням високоефективної рідинної хроматографії [4].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження були капсули «Цинатропіл» виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я».

Визначення проводили методом високоефективної рідинної хроматографії. Для виконання вимірювання використовували колонку Atlantis dC18 (Waters corp.) [1].

Метод кількісного визначення цинаризину та пірацетаму заснований на принципі абсолютного калібрування. Методики приготування розчинів зразків та розчинів порівняння наведені нижче.

Випробуваний розчин для визначення цинаризину. 5 капсул препарату поміщали в колбу місткістю 250 мл, додавали 150 мл 0,1 М розчину кислоти хлоридної, витримували на ультразвуковій бані при 40°C до повного розчинення желатинової оболонки капсул, охолоджували до кімнатної температури, доводили об'єм розчину до мітки метанолом, перемішували і фільтрували через скляний фільтр ПОР-16, відкидаючи перші 5 мл фільтрату.

Випробуваний розчин для визначення пірацетаму. 1 мл випробуваного розчину для визначення цинаризину поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл, доводили об'єм розчину сумішшю 0,1 М розчину кислоти хлоридної — метанол (60:40) і перемішували.

Розчин порівняння для визначення цинаризину. Біля 400 мг (точна наважка) ФСЗ ДФУ пірацетаму і біля 25 мг (точна наважка) ФСЗ ДФУ цинаризину поміщали в мірну колбу місткістю 50 мл, додавали 30 мл 0,1 М розчину кислоти хлоридної, витримували на ультразвуковій бані при 40°C до повного розчинення, охолоджували до кімнатної температури, доводили об'єм розчину до мітки метанолом і перемішували.

Розчин порівняння для визначення пірацетаму. 1 мл розчину порівняння для визначення цинаризину поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл, доводили об'єм розчину сумішшю 0,1 М розчину кислоти хлоридної — метанол Р (60:40) і перемішували.

Оскільки субстанції пірацетаму та цинаризину аналізувалися із застосуванням градієнтної методики на обернених фазах, визначення цих речовин у капсулах проводили в тих же умовах.

10 мкл випробуваного розчину аналізували в нижче наведених умовах, отримуючи кількість

ТАБЛИЦЯ 1
Програма градієнта для хроматографування

Час, хв.	Рухома фаза А, %	Рухома фаза В, %	Режим
0-5	100	0	ізократичний
5-6	100→30	0→70	лінійний градієнт
6-15	30	70	ізократичний
15-16	30→100	70→0	лінійний градієнт
16-20	100	0	ізократичний

хроматограм, яка необхідна для забезпечення значення RSD меншого, ніж RSD максимальне, як зазначено в ДФУ [2].

По 10 мкл випробуваного розчину і розчину порівняння аналізували в умовах, наведених нижче, отримуючи кількість хроматограм не менше, ніж при перевірці придатності хроматографічної системи.

Таким чином, методика кількісного визначення забезпечує розділення вказаних речовин не тільки за рахунок селективності і застосування октадецилсілікагелевого сорбенту, але і за рахунок обраного для двох речовин максимального поглинання.

Різниця у фізико-хімічних властивостях речовин, що визначалися, вимагала використання режиму градієнтного елюювання, що забезпечило швидке і надійне розділення цих речовин на різних типах обернених фаз.

Умови хроматографування цих речовин у результаті проведеної оптимізації були скориговані. Отримані параметри методики складаються з на-

ступного: колонка розміром 250*4,6 мм, заповнена сорбентом з привитою фазою октадецилсілікагель, розмір часток – 5 мкм (Symmetry Shield C 18. Waters Corp.) або аналогічна, для якої виконуються умови придатності хроматографічної системи; рухома фаза А: розчин кислоти фосфатної рН 2,2, дегазована будь-яким зручним способом; рухома фаза В: метанол, дегазована будь-яким зручним способом; швидкість рухомої фази 1,0 мл/хв.; використовують програму градієнта, наведену в табл. 1.

Додаткову селективність і чутливість методики по відношенню до речовин, які визначалися, забезпечувала довжина хвили, при якій проводили визначення. Довжина хвили детектування розчинів для визначення цинаризину – 230 нм та для визначення пірацетаму – 212 нм.

У першому доповненні ДФУ наведені основні вимоги до придатності хроматографічних систем, які використовуються для фармацевтичного аналізу [2]. Спираючись на ці вимоги, були встановлені вимоги до приготування хроматографічної системи, яка використовувалася для кількісного визначення пірацетаму та цинаризину: число теоретичних тарілок, розраховане за піком цинаризину із хроматограми розчину порівняння для визначення цинаризину при довжині хвили 230 нм, повинно бути не менше 3000 [1]; число теоретичних тарілок, розраховане за піком пірацетаму із хроматограми розчину порівняння для визначення пірацетаму при довжині хвили 212 нм, повинно бути не менше 800 [1]; коефіцієнт симетрії піку,

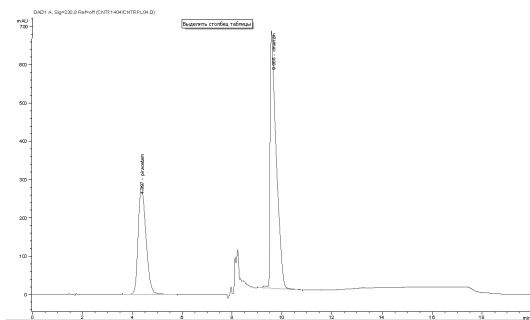


Рис. 1. Хроматограма випробуваного розчину для визначення цинаризину (230 нм).

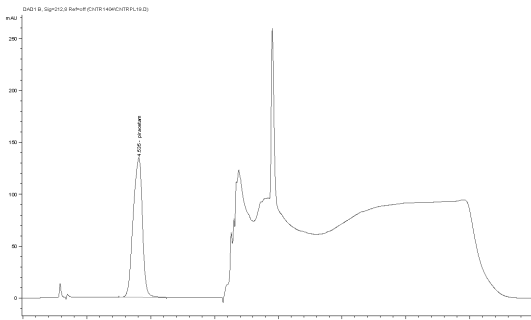


Рис. 2. Хроматограма випробуваного розчину для визначення пірацетаму (212 нм).

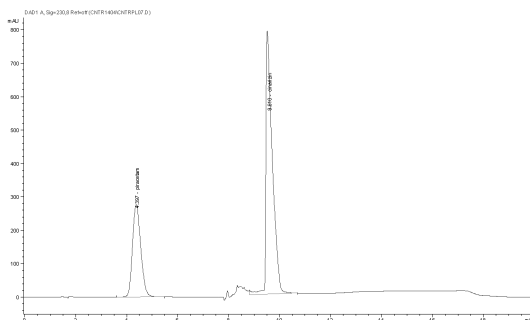


Рис. 3. Хроматограма розчину порівняння для визначення цинаризину (230 нм).

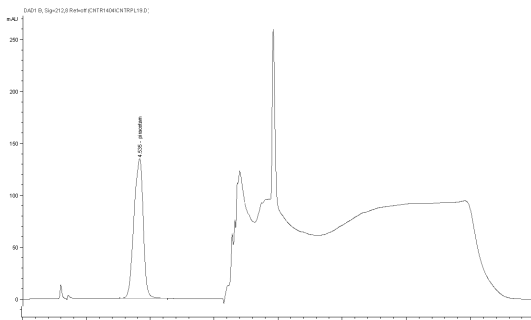


Рис. 4. Хроматограма розчину порівняння для визначення пірацетаму (212 нм).

розрахований за піком цинаризину із хроматограми розчину порівняння для визначення цинаризину при довжині хвилі 230 нм, повинен бути не більше 1,6 [1]; коефіцієнт симетрії піку, розрахований за піком пірацетаму із хроматограми розчину порівняння для визначення пірацетаму при довжині хвилі 212 нм, повинен бути не більше 1,6 [1].

Вміст цинаризину (X) в одній капсулі в мг розраховували за формулою:

$$X = \frac{S_i \cdot m_0 \cdot 250 \cdot P \cdot b}{S_0 \cdot 50 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 450} = \frac{S_i \cdot m_0 \cdot P \cdot b}{S_0 \cdot 45000}$$

де S_i — середнє значення площ піків цинаризину, розраховане із хроматограм випробуваного розчину для визначення цинаризину; S_0 — середнє значення площ піків цинаризину, розраховане із хроматограм розчину порівняння для визначення цинаризину; m_0 — маса наважки ФСЗ ДФУ цинаризину, мг; P — вміст цинаризину у ФСЗ ДФУ, %; b — середня маса вмісту капсул, мг.

Вміст пірацетаму (X) в одній капсулі в мг розраховували за формулою:

$$X = \frac{S_i \cdot m_0 \cdot 250 \cdot 1 \cdot 25 \cdot P \cdot b}{S_0 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 5 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 450} = \frac{S_i \cdot m_0 \cdot P \cdot b}{S_0 \cdot 45000}$$

де S_i — середнє значення площ піків пірацетаму, розраховане із хроматограм випробуваного розчину для визначення пірацетаму; S_0 — середнє значення площ піків пірацетаму, розраховане із хроматограм розчину порівняння для визначення пірацетаму; m_0 — маса наважки ФСЗ ДФУ пірацетаму, мг; P — вміст пірацетаму у ФСЗ ДФУ, %; b — середня маса вмісту капсул, мг.

Приготування розчину кислоти фосфатної рН 2,2. 900 мл води поміщали в стакан місткістю 1000 мл, встановлювали рН ($2,2 \pm 0,05$) за допомогою кислоти фосфатної (каталог Merck №1.00573.1000) (ДФУ I вид., 2.2.3). Отриманий розчин поміщали в мірну колбу місткістю 1000 мл, доводили об'єм розчину водою до мітки, перемішували і фільтрували через скляний фільтр ПОР 16.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Шляхом використання градієнту елюювання на обернених фазах були розділені речовини, різні за фізико-хімічними властивостями, — пірацетам та цинаризин. Розроблена методика кількісного визначення пірацетаму та цинаризину методом абсолютного калібрування, яка дозволяє одночасно визначати вказані речовини, що зменшує час аналізу і збільшує ефективність. Отримані хроматограми наведені на рис. 1-4.

ВИСНОВКИ

1. За допомогою рідинної хроматографії була розроблена оригінальна методика кількісного

визначення пірацетаму та цинаризину в капсулах «Цинатропіл».

2. Розроблені вимоги до придатності хроматографічної системи, яка використовувалася для кількісного визначення цих речовин.

3. Стандартизовано умови проведення хроматографічного аналізу, які забезпечують повне розділення пірацетаму та цинаризину при їх одночасній присутності в препараті.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — Доп. 1. — 2004. — 520 с.
3. Дрогвоз С.М. Фармакологія на допомогу лікарю, провізору та студенту: Підручник-довідник / С.М.Дрогвоз, В.В.Дрогвоз. — Харків, 2004. — 476 с.
4. Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии для анализа многокомпонентных лекарственных препаратов / А.В.Костарной, Г.Б.Голубицкий, Е.М.Басова и др. // Журнал аналитической химии. — 2008. — Т. 63, №6. — С. 566-580.
5. Компендиум 2006 — лекарственные препараты: Т.2. / Под ред. В.Н.Коваленко, А.П.Викторова. — К.: МОРИОН, 2006. — 1126 с.

В.А.Ханин, В.С.Кисличенко. Разработка методики количественного определения пирацетамта и циннаризина в капсулах «Цинатропил». Харьков, Украина.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, пирацетам, циннаризин, капсулы

На основании метода высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ) разработана оригинальная методика количественного определения пирацетамта и циннаризина в составе капсул «Цинатропил» при их совместном присутствии.

V.A.Hanin, V.S.Kyslychenko. Quantitative determination of piracetam and cinarisin in capsules «Cinatropil». Kharkiv, Ukraine.

Key words: high-performance liquid chromatography, piracetam, cinarisin, capsules

The original method of quantitative determination of piracetam and cinarisin in capsules «Cinatropil» at the same time was developed on the base of high-performance liquid chromatography (HPLC).

Надійшла до редакції 16.01.2010 р.