

Разработка методики количественного анализа многокомпонентного антигипертензивного препарата

О.П.Стрилец, И.В.Трутаев, Л.С.Стрельников

Национальный фармацевтический университет, кафедра биотехнологии
Харьков, Украина

Разработана методика количественного анализа нового многокомпонентного препарата с антигипертензивным действием методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Достоинством предлагаемой методики является возможность одновременного определения трех действующих веществ препарата. Методика использована для анализа опытно-экспериментальных образцов препарата. Полученные результаты хорошо воспроизводимы.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, амлодипин, индапамид, лизиноприл, количественный анализ.

ВВЕДЕНИЕ

Артериальная гипертензия (АГ) остается на сегодняшний день одной из наиболее серьезных проблем здравоохранения во всем мире. Адекватное снижение артериального давления и жесткий контроль за его уровнем являются важнейшими условиями снижения риска сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности. Многочисленные клинические исследования показали, что монотерапия способна эффективно контролировать уровень артериального давления лишь у 40-50% больных [4]. Согласно результатам ряда исследований от 35% до 70% пациентов, страдающих АГ, нуждаются в назначении комбинированной гипотензивной терапии [5]. Синергизм действия препаратов, входящих в состав комбинаций, позволяет применять их в низких дозах, при этом добиваясь лучшего гипотензивного эф-

фекта, чем у полноразовой монотерапии. Повышенный интерес к низкодозовым комбинациям неслучаен: при условии применения подобных препаратов заведомо достигается не только потенцирование гипотензивного эффекта и увеличивается число больных, отвечающих на терапию, но и, что не менее важно, снижается риск побочных явлений [4, 5, 7, 8].

На основе проведенных ранее исследований по созданию комбинированной лекарственной формы таблеток под условным названием «Амлопамид» нами был обоснован состав и разработана рациональная технология получения препарата. Таблетки «Амлопамид» — новый комбинированный трехкомпонентный препарат антигипертензивного действия. В состав препарата входят следующие компоненты: амлодипина безилат, лизиноприла дигидрат, индапамид, а также ряд вспомогательных веществ, разрешенных к медицинскому применению [3].

В последние годы для разделения, идентификации и количественного определения действующих веществ в многокомпонентных лекарственных формах часто используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Данный метод позволяет разделить близкие по физико-химическим свойствам соединения и проводить их определение в очень низких концентрациях [6]. Наличие в исследуемом препарате трех действующих веществ обусловило необходимость разработки метода количественного анализа, который позволил бы провести определение всех действующих веществ в таблетках.

Целью исследования было разработать методику количественного анализа многокомпонентного препарата таблеток «Амлопамид» с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии.

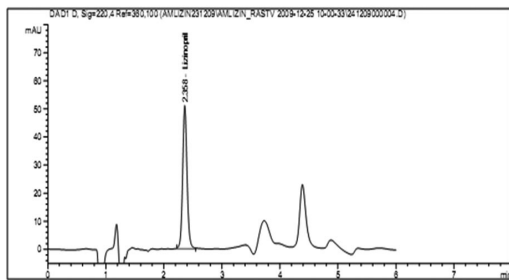


Рис. 1. Хроматограма лізиноприла (стандартний образец).

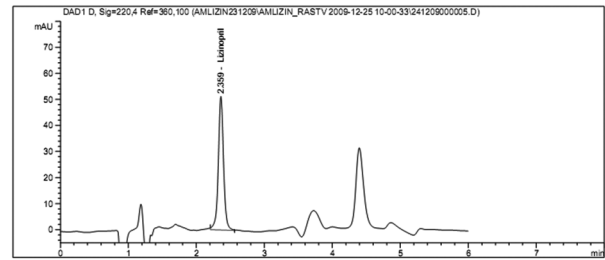


Рис. 2. Хроматограма лізиноприла (испытующий образец препарата).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для приготовления подвижных фаз, а также для растворения стандартных и испытуемых препаратов использовали смесь ацетонитрила Р, 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты Р и воды для хроматографии Р. Срок хранения растворителя 10 суток в защищенном от света месте при температуре от 8°C до 15°C. В качестве стандартов определяемых лекарственных веществ использовали фармацевтические субстанции, соответствующие всем требованиям АНД. Все остальные использованные реактивы имели квалификацию не ниже «ч.д.а.».

Хроматографический анализ проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1100 с УФ-детектором. Использовали колонку из нержавеющей стали длиной 50 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненную октадецилсилильным сорбентом С18 с размером частиц 5 мкм. Термостатирование проводили при 45°C.

Для выполнения анализа 140 мг (точная навеска) порошка растертых таблеток помещали в мерную колбу емкостью 100 мл, добавляли 70 мл растворителя. Выдерживали в течение 10 мин. на ультразвуковой бане при температуре 25°C с периодическим перемешиванием. Полученный раствор доводили растворителем до метки, перемешивали и фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента», отбрасывая первые 5 мл фильтрата. Параллельно готовили рас-

твор рабочих стандартных образцов. Для этого в мерную колбу емкостью 100 мл помещали 50 мг (точная навеска) лизиноприла дигидрата, 50 мг (точная навеска) амлодипина безилата и 25 мг (точная навеска) индапамида, добавляли 70 мл растворителя, перемешивали до полного растворения. Затем доводили объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивали. 5 мл полученного раствора переносили в мерную колбу емкостью 50 мл, доводили объем раствора до метки растворителем, перемешивали. Растворы использовали свежеприготовленными.

Хроматографировали по 20 мкл испытуемого раствора и раствора сравнения, получая не менее трех хроматограмм для каждого раствора.

Содержание ($X_{\text{л}}$) лизиноприла дигидрата (в перерасчете на лизиноприл), в перерасчете на среднюю массу таблетки, в миллиграммах, рассчитывали по формуле:

$$X_{\text{л}} = \frac{S \times m_0 \times P \times b \times 405,5}{S_0 \times m \times 1000 \times 441,5}$$

где S и S_0 — средние величины площадей пиков лизиноприла на хроматограммах испытуемого раствора и раствора сравнения соответственно; m_0 , m — массы навесок лизиноприла дигидрата стандарта и испытуемого препарата, в миллиграммах; b — средняя масса таблетки, в миллиграммах; P — содержание лизиноприла

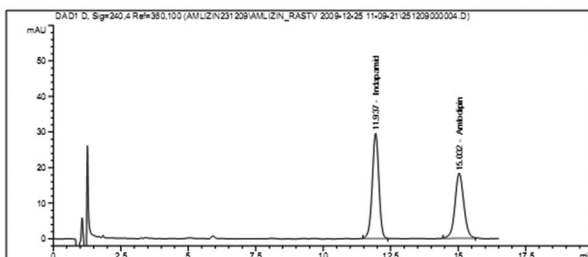


Рис. 3. Хроматограма амлодипина и индапамида (стандартные образцы).

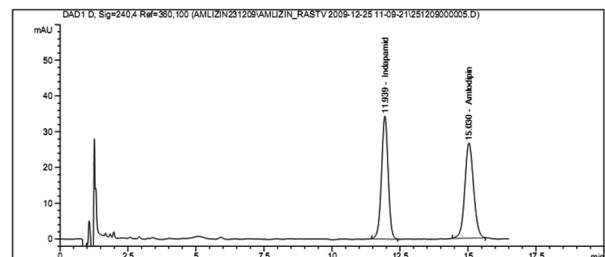


Рис. 4. Хроматограма амлодипина и индапамида (испытующий образец препарата).

дигидрата в стандартном образце лизиноприла дигидрата, в процентах.

Содержание (X_a) амлодипина безилата (в перерасчете на амлодипин), в перерасчете на среднюю массу таблетки, в миллиграммах, рассчитывали по формуле:

$$X_a = \frac{S \times m_0 \times P \times b \times 408,9}{S_0 \times m \times 1000 \times 567,1}$$

Содержание (X_n) индапамида (в перерасчете на 100% вещество), в перерасчете на среднюю массу таблетки, в миллиграммах, рассчитывали по формуле:

$$X_n = \frac{S \times m_0 \times P \times b}{S_0 \times m \times 1000}$$

где S и S_0 — средние величины площадей пиков амлодипина (индапамида) на хроматограммах испытуемого раствора и раствора сравнения соответственно; m_0 , m — массы навесок амлодипина безилата (индапамида) стандарта и испытуемого препарата, в миллиграммах; b — средняя масса таблетки, в миллиграммах; P — содержание амлодипина безилата (индапамида) в стандартном образце амлодипина безилата (индапамида), в процентах.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Определение лизиноприла дигидрата проводили при следующих условиях: температура колонки — 45°C; подвижная фаза, изократическая: линия А (буферный раствор рН 7,0) — 20%; линия В (ацетонитрил Р) — 15%; линия Д (вода для хроматографии Р) — 65%; скорость подвижной фазы — 1,5 мл/мин.; детектирование при длине волны 220 нм.

Хроматографическая система считается пригодной, если: число теоретических тарелок, рассчитанное по пику лизиноприла, — не менее 1000; относительное стандартное отклонение,

рассчитанное по трем хроматограммам раствора сравнения, для площади пика лизиноприла — не больше 1,34; коэффициент симметрии пика лизиноприла — не менее 0,5 и не более 2,0; коэффициент распределения между пиком лизиноприла и каким-либо другим пиком — не менее 1,5 [1, 2].

Каждые 60 минут с начала анализа лизиноприла дигидрата колонку следует промывать не менее 30 минут, используя подвижную фазу для определения амлодипина безилата и индапамида.

Определение амлодипина безилата и индапамида проводили при следующих условиях: температура колонки — 45°C; подвижная фаза, изократическая: линия А (буферный раствор рН 7,0) — 20%; линия В (ацетонитрил Р) — 28%; линия Д (вода для хроматографии Р) — 52%; скорость подвижной фазы — 1,5 мл/мин.; детектирование при длине волны 220 нм.

В данном случае хроматографическая система является пригодной, если: число теоретических тарелок, рассчитанное по пику лизиноприла, — не менее 1000; относительное стандартное отклонение, рассчитанное по трем хроматограммам раствора сравнения, для площади пика лизиноприла — не больше 1,34; коэффициент симметрии пика амлодипина и индапамида — не менее 0,5 и не более 2,0; коэффициент распределения между пиком индапамида и пиком амлодипина — не менее 2 [1, 2].

Полученные хроматограммы представлены на рис. 1-4.

Видно, что пики всех определяемых веществ четко разделены. Соответствие времени удерживания хроматографических пиков отдельных веществ и анализируемого препарата, а также разделение пиков подтверждают возможность идентификации и количественного определения лизиноприла дигидрата, амлодипина безилата и индапамида при их совместном присутствии в препарате.

Полученные результаты и метрологические характеристики анализа приведены в табл. 1.

Содержание лизиноприла дигидрата (в перерасчете на лизиноприл) и амлодипина бе-

ТАБЛИЦА 1

Результаты анализа таблеток «Амлопамид» методом ВЭЖХ

Компоненты	Содержание в одной дозе, мг (n = 5; P = 95)				
	Норма по МКЯ	X_{cp}	S, г	S_{xcp}	ΔX_{cp}
Лизиноприла дигидрат	4,75-5,25	4,94	0,13975	0,01953	0,12
Амлодипина безилат	4,75-5,25	4,99	0,164773	0,02715	0,14
Индапамид	2,375-2,625	2,539	0,101497	0,010302	0,089

зилата (в перерасчете на амлодипин) в одной таблетке должно быть в пределах 4,75-5,25 мг, учитывая нормы допустимых отклонений ($\pm 5\%$). Содержание индапамида в одной таблетке должно быть в пределах 2,375-2,625 мг, учитывая нормы допустимых отклонений ($\pm 10\%$). По данным результатов исследования, представленных в табл. 1, содержание действующих веществ, а именно лизиноприла дигидрата, амлодипина безилата и индапамида, в комбинированной лекарственной форме таблеток находится в дозванных пределах.

ВЫВОДЫ

1. Разработана методика количественного определения действующих веществ комбинированных таблеток — лизиноприла дигидрата, амлодипина безилата и индапамида — методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

2. Проведено количественное определение действующих веществ в комбинированных таблетках антигипертензивного действия. Содержание лизиноприла дигидрата, амлодипина безилата и индапамида в перерасчете на 1 таблетку соответствует нормативной документации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Доп. 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2006. — 620 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Доп. 3. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2009. — 280 с.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. 15-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: Новая волна, 2005. — 1200 с.
4. Сазонова А. Новые направления в борьбе с артериальной гипертензией / А.Сазонова // Провизор. — 2007. — №7. — С. 24-27.
5. Современные аспекты комбинированной антигипертензивной терапии / В.В.Скворцов, А.В.Тумаренко,

О.В.Орлов, В.В.Одинцов, Е.М.Скворцова // Терапевт. — 2009. — №7. — С. 41-47.

6. Яшин Я.И. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Состояние и перспективы / Я.И.Яшин, А.Я.Яшин // Рос. хим. журнал. — 2003. — Т. XLVII, №1. — С. 64-79.
7. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension and of the European Society of Cardiology. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension // J. Hypertens. — 2007. — Vol. 25. — P. 1105-1187.
8. Combination therapy versus monotherapy in reducing blood pressure: metaanalysis on 11,000 participants from 42 trials / D.S.Wald, M.Law, J.K.Morris // Am. J. Med. — 2009. — Vol. 122. — P. 290-300.

О.П.Стрелець, І.В.Трутаєв, Л.С.Стрельников. Розробка методики кількісного аналізу багатокомпонентного антигіпертензивного препарату. Харків, Україна.

Ключові слова: високоефективна рідинна хроматографія, амлодипін, індапамід, лизиноприл, кількісний аналіз.

Розроблена методика кількісного аналізу методом високоефективної рідинної хроматографії нового багатокомпонентного препарату з антигіпертензивною дією. Перевагою запропонованої методики є можливість одночасного визначення трьох діючих речовин препарату. Методика використана для аналізу дослідно-експериментальних зразків препарату. Отримані результати добре відтворюються.

O.P.Strilets, I.V.Trutaev, L.S.Strelnikov. Development of technique for the quantitative analysis of multi-component antihypertensive drug. KHARKIV, Ukraine.

Key words: high-performance liquid chromatography, amlodipin, indapamid, lizinopril, quantitative analysis.

The technique of quantitative analysis of the new multi-component drug with antihypertensive action by high-performance liquid chromatography high-performance liquid chromatography was devised. The advantage of proposed technique is possibility simultaneous determination of three active components of the drug. The technique was used for analysis of research samples of the drug. The finding is rightly reproducible.

Надійшла до редакції 08.04.2011 р.