

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 615.225.2.015.21.074:543.544.943.3

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРАПАМИЛА ГИДРОХЛОРИДА, ЛИЗИНОПРИЛА ДИГИДРАТА И ПРОДУКТОВ ИХ ДЕСТРУКЦИИ ПРИ СОВМЕСНОМ ПРИСУТСТВИИ

Е.В. КОМПАЦЕВА
А.В. БАБЬЯК
Л.П. МЫКОЦ
С.Г. ТИРАСПОЛЬСКАЯ

*Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

e-mail: annav.babyak@gmail.com

Целью представленной работы является разработка методики определения лизиноприла дигидрата, верапамила гидрохлорида и продуктов их деструкции при совместном присутствии. Выбраны условия проведения ТСХ-анализа определения исследуемых веществ и продуктов их деструкции. Выявлено, что первым подвергается деструкции лизиноприл. Разработана методика установления сроков годности лекарственного препарата, содержащего верапамила гидрохлорид и лизиноприла дигидрат.

Ключевые слова: лизиноприла дигидрат, верапамила гидрохлорид, продукты деструкции, стабильность, ТСХ-анализ.

В связи с тем, что комбинированная терапия артериальной гипертензии (АГ) становится одним из основных направлений при лечении больных данной патологией, широкое распространение получили фиксированные комбинации антигипертензивных препаратов, содержащие в одной таблетке два лекарственных средства. Их использование позволяет получить устойчивый гипотензивный эффект с минимальным количеством побочных явлений [1]. В настоящее время одной из наиболее предпочтительных комбинаций для лечения АГ является комбинация антагониста кальция и ингибитора ангиотензинпревращающего фермента [2]. Поэтому определенный интерес представляет создание комбинированной лекарственной формы (ЛФ), содержащей верапамила гидрохлорид и лизиноприла дигидрат.

Одним из центральных вопросов при создании нового лекарственного средства (ЛС) является исследование его стабильности и определение сроков годности. Верапамила гидрохлорид и лизиноприла дигидрат в процессе длительного или неправильного хранения подвергаются деструкции. В качестве посторонних примесей в лекарственных веществах также могут присутствовать и промежуточные продукты синтеза.

Целью нашей работы является разработка методики определения лизиноприла, верапамила и продуктов их деструкции в лекарственном препарате, содержащем оба компонента.

Материалы и методы. В работе использовались образцы, соответствующие требованиям нормативных документов: верапамила гидрохлорид (ФС 42-0224-07) и лизиноприла дигидрат (ФС 42-0252-07), а также их модельная смесь в соотношении 1:10, согласно предполагаемой дозировки ЛС в комбинированном ЛП.

В качестве агрессивных факторов для образования продуктов деструкции лизиноприла и верапамила, были использованы хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М, натрия гидроксида раствор 0,1 М, водорода пероксида раствор 3%, а также термическое разложение при 60° и 120°С.

В работе использовались хроматографические пластинки марки «Sorbfil» ПТСХ-П-А-УФ на алюминиевой подложке размером 10×15 см. Для идентификации исследуемых веществ и продуктов их деструкции были отобраны системы растворителей, представленные в табл. 1.



Таблица 1

Системы растворителей для идентификации верапамила гидрохлорида, лизиноприла дигидрата и продуктов их деструкции методом ТСХ

Наименование системы	Состав системы растворителей
C ₁	Изопропанол – аммиака раствор концентрированный (20:0,5)
C ₂	Спирт этиловый – кислоты хлористоводородной раствор 2 н (20:1)
C ₃	Гексан – изопропанол – аммиака раствор концентрированный (73:25:2)
C ₄	н-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода – этилацетат (1:1:1:1)
C ₅	Толуол-метанол-ацетон – уксусная кислота ледяная (70:20:5:5)
C ₆	Хлороформ – спирт 96% – аммиака раствор концентрированный (30:30:7,5), (90:10:0,2)
C ₇	Спирт 96% – вода (7:3)
C ₈	н-бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:1)
C ₉	Этилацетат – изопропанол – вода – аммиака раствор концентрированный (20:20:25:1)
C ₁₀	Ацетон – вода – уксусная кислота – муравьиная кислота (50:15:12:3)
C ₁₁	Хлороформ – метанол (9:1)
C ₁₂	Хлороформ – этилацетат – уксусная кислота (10:3:2)

Для проявления хроматографических пластинок использовали реактивы: раствор о-толидина (с предварительной обработкой пластины парами хлора) [3], раствор хлорида железа йода, нингидрина 2% спиртовой раствор, пары йода [4,6], а также УФ-свет с длиной волны 254 и 365 нм.

В качестве растворителя использовали смесь спирта 95% и воды в соотношении 1:1, в которой растворяются оба исследуемых вещества.

На линию старта хроматографической пластинки наносили по 10 мкл 0,04% исследуемых растворов. О возможности применения выбранных систем растворителей судили по величине значения R_f и коэффициенту разделения α .

Результаты и обсуждения. В соответствии с требованиями НД в исследуемых ЛС допускается от 0,5% до 2% суммарных посторонних примесей [5-7], в связи с этим для расчета нанесения пробы лизиноприла использовали допустимую концентрацию примесей 2%.

Предварительными исследованиями установлено, что в качестве проявителей в ходе ТСХ-анализа возможно использование раствора о-толидина, раствора хлорида железа йода, нингидрина 2% спиртового раствора, паров йода, а также УФ-свет с длиной волны 254 и 365 нм. В ходе эксперимента выяснилось, что наиболее чувствительным реактивом является раствор о-толидина (табл. 2).

Таблица 2

Определение чувствительности реактивов при определении верапамила гидрохлорида и лизиноприла дигидрата

Реактив	Чувствительность, мкг	
	Верапамила гидрохлорид	Лизиноприла дигидрат
Раствор о-толидина	0,2	0,2
Пары йода	50	50
Раствор нингидрина	не обнаружено	1
Раствором хлорида железа йода	10	50
УФ-свет (254 нм)	5	5

В качестве альтернативного и дополнительного детектирующего агента, подтверждающего наличие верапамила и лизиноприла можно рекомендовать в качестве проявителя УФ-свет $\lambda=254$ нм (предел обнаружения 5 мкг).

Согласно работе Н.А. Эпштейна [8] возможность образования продуктов деструкции исследуемых веществ изучали путем воздействия на них агрессивных факторов среды с последующим ТСХ-анализом результатов.

Критерием эффективности разрушающего действия агрессивных факторов считали момент появления дополнительного пятна на хроматограмме исследуемого вещества.

Возможность применения систем для разделения лекарственных веществ между собой и с продуктами деструкции оценивали по величине значения R_f . В ходе эксперимента нами были отобраны системы растворителей, позволяющие идентифицировать и разделить исследуемые вещества и продукты их деструкции (табл. 3).

Таблица 3

Результаты определения хроматографической подвижности исследуемых веществ в различных системах растворителей

Система растворителей	Значение R_f			
	Верапамил	Неидентифицированные продукты деструкции верапамила	Лизиноприл	Неидентифицированные продукты деструкции лизиноприла
C_2	0,5	0,57	0,33	0,21 и 0,37
C_4	0,65	0,14	0,44	0,66 и 0,28
C_8	0,5	не обнаружено	0,10	0,23 и 0,42
C_9	0,90	0,10 и 0,76	0,61	0,34, 0,50 и 0,75
C_{10}	0,85	не обнаружено	0,66	0,84

Установлено, что использование представленных в таблице 3 систем позволяет достоверно идентифицировать и разделить верапамил и лизиноприл. Коэффициент разделения α верапамила и лизиноприла составил 1,48 для систем C_4 , C_9 , 1,52 для системы C_2 , 5 для системы C_8 и 1,29 для системы растворителей C_{10} . В результате проведенных экспериментов выявили, что оптимальной системой для разделения исследуемых веществ и продуктов их деструкции является система C_9 (рис. 1).

В ходе эксперимента первым (на третьи сутки хранения при 60°) под воздействием раствора водорода пероксида подвергся разложению лизиноприла дигидрата. На 4-е сутки эксперимента процесс разложения лизиноприла в растворе наблюдали в среде хлористоводородной кислоты. При изменении температурного режима ($120^\circ C$) термическая деструкция лизиноприла наблюдалась уже на 2-е сутки воздействия.

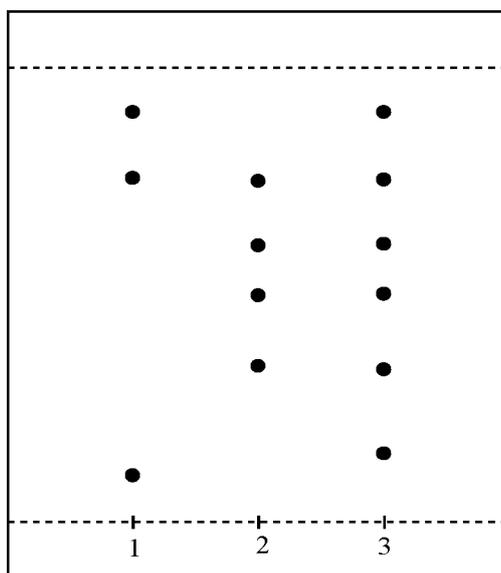


Рис. 1. Хроматографическая подвижность верапамила гидрохлорида, лизиноприла дигидрата и их продуктов деструкции в модельной смеси

- 1 – трек образца верапамила, подвергнутого термическому воздействию ($120^\circ C$);
- 2 – трек образца лизиноприла, подвергнутого термическому воздействию ($120^\circ C$);
- 3 – трек образца модельной смеси верапамил-лизиноприл 1:10, подвергнутой деструкции

Раствор верапамила гидрохлорида в аналогичных условиях оставался стабилен на протяжении 9 суток. На девятые сутки эксперимента разложение и образование продуктов деструкции верапамила наблюдали в среде раствора водорода пероксида ($60^\circ C$). Однако, при термическом воздействии при $120^\circ C$ разрушение вещества происходит быстрее, и продукты деструкции образуются уже на пятые сутки. За период наблюдения воздействие щелочного и кислотного гидролиза не повлияло на стабильность раствора верапамила гидрохлорида.

Дополнительные пятна на треке верапамила обнаруживаются при рассмотрении в УФ-свете с длиной волны 365 нм.



Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что легче поддается воздействию и разрушается лизиноприла дигидрат. Следовательно, при установлении сроков годности лекарственного препарата, содержащего оба компонента, ориентироваться в первую очередь необходимо на него. В ходе хроматографического анализа в результате воздействия агрессивных факторов среды нами обнаружено 2 примеси верапамила и 3 лизиноприла. При этом значения R_f пятен неидентифицированных продуктов деструкции исследуемых веществ одинаково в среде раствора хлористоводородной кислоты, раствора натрия гидроксида, раствора водорода пероксида, а также при термическом разложении веществ. Основываясь на этом, мы предположили, что под воздействием различных агрессивных факторов разложение исследуемых веществ идет по одной и той же схеме, и образуются идентичные продукты деструкции. Используя найденный нами предел обнаружения лизиноприла, и считая, что первоначальный продукт деструкции будет незначительно отличаться по своей структуре от него, были рассчитаны оптимальные объемы и концентрации исследуемых препаратов для нанесения на пластинку для возможности обнаружения продуктов деструкции лизиноприла:

$$X = \frac{a \times 100}{b},$$

где a – предел обнаружения вещества, мкг;
 b – допустимое содержание примеси, %.

Для того чтобы достоверно обнаружить появление примеси лизиноприла гидрохлорида необходимо на хроматограмму нанести 220 мкг смеси лизиноприл-верапамил в соотношении 1:10.

На основании полученных результатов разработали методику определения посторонних примесей (продуктов деструкции) в модельной смеси лизиноприл-верапамил. Навеску около 0,55 г порошка модельной смеси лизиноприл-верапамил в соотношении 1:10 помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют растворитель спирт-вода 1:1, взбалтывают и доводят объем до метки этим же растворителем. На линию старта хроматографической пластинки «Sorbfil» ПТСХ-П-А-УФ на алюминиевой подложке размером 10×15 см наносят 10 мкл полученного раствора (20 мкг лизиноприла и 200 мкг верапамила) в виде полосы шириной 2 см. Рядом наносят 10 мкл (0,4 мкг) 0,004% раствора СО лизиноприла дигидрата. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе в течение 10 мин, помещают в камеру со смесью этилацетат – изопропанол – вода – аммиака раствор концентрированный (20:20:25:1) и хроматографируют восходящим методом. Когда фронт подвижной фазы пройдет 12 см от линии старта, пластинку вынимают и сушат в вытяжном шкафу до полного удаления растворителей. Затем хроматограмму помещают в камеру для хлорирования над смесью насыщенный раствор калия перманганата – кислота хлористоводородная (1:1). Через 10 мин пластинку вынимают, сушат на воздухе и опрыскивают раствором ортолидина. Дополнительные пятна, проявившиеся на треке модельной смеси, по интенсивности окраски и совокупности величины не должны превышать пятна раствора СО лизиноприла.

Выводы

1. Подобраны условия определения лизиноприла дигидрата, верапамила гидрохлорида в присутствии продуктов их деструкции методом ТСХ.
2. В ходе проведенного эксперимента выявлено, что первым в комбинированной лекарственной форме, содержащей лизиноприла дигидрат и верапамила гидрохлорид, будет подвергаться деструкции лизиноприла дигидрат.
3. Разработана методика установления сроков годности лекарственного препарата, содержащего исследуемые лекарственные вещества.

Литература

1. Чазова, И.Е. Комбинированная терапия артериальной гипертензии. Приложение к Consilium Medicum. Выпуск 2. / И.Е. Чазова // Артер. гиперт. – 2001.-С. 6-22.
2. Преимущества комбинированной терапии артериальной гипертензии: новая фиксированная комбинация ингибитора ангиотензин-превращающего фермента и антагониста кальция / Д.В.Преображенский [и др.] // Кардиология. – 2007.- Т.9, № 11.-С. 26-29.
3. Верапамил, НД 42-0002-5402-04.
4. Тарка, НД 42-11812-07.
5. Финоптин, НД 42-231-03.
6. Диротон, НД 42-11309-04.
7. Государственная фармакопея РФ: в 2 т. – М.: Издательство «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2008. –704с. Т. 1.
8. Эпштейн, Н.А. Оценка пригодности (валидация) ВЭЖХ методик в фармацевтическом анализе (обзор) / Н.А. Эпштейн // Хим.-фармац. Журн. – 2004. – Т.38, №4. – С. 40–56.



USING OF THIN LAYER CHROMATORAPHY ANALYSIS FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF VERAPAMIL, LISINOPRIL AND PRODUCTS OF ITS DEGRADATION

E.V. KOMPANCEVA
A.V. BABYAK
L.P. MIKOTZ
S.G. TIRASPOLSKAJ

*Pyatigorsk State
Pharmaceutical Academy*

e-mail: annav.babyak@gmail.com

The aim of the study was to develop a simple method for the simultaneous determination of lisinopril, verapamil and products of its degradation. Proved that to the first is exposed for destruction and destroys lisinopril. Conditions of carrying out of the TLC-analysis for definition of investigated substances and products of its degradation are picked up. The technique of an establishment of working lives of the dosage form, containing verapamil and lisinopril is developed.

Key words: lisinopril, verapamil, degradation products, stability, TLC-analysis.