

УДК 615.453.6:615.014.21:543.544

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ АНАЛИЗА НОВЫХ КОМБИНИРОВАННЫХ ТАБЛЕТОК ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

© *Стрилец О.П.*

Кафедра биотехнологии Национального фармацевтического университета, Харьков, Украина

E-mail: biotech_ukrfa@mail.ru

Представлена новая оригинальная лекарственная форма для лечения артериальной гипертонии – комбинированные таблетки под условным названием «Бисопамид». Комбинация активных фармацевтических ингредиентов разных фармакологических групп расширяет механизмы антигипертензивного действия, уменьшает частоту побочных эффектов, предупреждает поражение органов-мишеней, повышает комплаенс больных к лечению. Для контроля качества предлагаемой лекарственной формы разработаны методики идентификации и количественного содержания действующих веществ таблеток «Бисопамид» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Достоинством предлагаемой методики является возможность одновременного анализа трех активных фармацевтических ингредиентов (бисопролол, лизиноприл, индапамид). Методики использованы для анализа опытно-экспериментальных образцов препарата. Полученные результаты хорошо воспроизводимы и достоверны. Разработанные методики включены в документ «Методики контроля качества на лекарственное средство».

Ключевые слова: комбинированный антигипертензивный препарат, таблетки, ВЭЖХ.

THE DEVELOPMENT OF NEW METHODS OF ANALYZING COMBINED TABLETS FOR ARTERIAL HYPERTENSION

Strilets O.P.

Department of Biotechnology of National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine

A new original drug formulation for managing hypertension – combined tablets codenamed “Bisopamid” was presented. The combination of active pharmaceutical ingredients of different pharmacological groups expands the mechanisms of antihypertensive action, reduces the incidence of side effects, prevents organ damage, increases compliance of patients to treatment. The methods of identification and quantitative analysis of new antihypertensive multicomponent tablets “Bisopamid” by HPLC were developed for quality control of the proposed formulation. The advantage of the proposed method is the possibility of simultaneous identification and quantification of the content of the three active pharmaceutical ingredients in a combined preparation (bisoprolol, lisinopril, indapamide). The techniques were used for analyzing the experimental samples of the drug. The results are well reproducible and credible. The developed techniques were introduced in the document ‘Guidelines for quality control of a medicinal product’.

Keywords: combined antihypertensive drug, tablets, HPLC.

Артериальная гипертензия (АГ) – стойкое повышение артериального давления является одной из проблем здравоохранения во всем мире. В Украине АГ является самым распространенным сердечно-сосудистым заболеванием, 31% взрослого населения страдает данным недугом [1].

Перспективным и эффективным подходом в лечении АГ является создание и использование комбинированных препаратов содержащих фиксированные комбинации гипотензивных активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) из разных фармакологических групп [1, 11]. В связи с этим, на кафедре биотехнологии Национального фармацевтического университета совместно с ПАО ХФЗ «Красная Звезда» (г. Харьков) был разработан состав и технология многокомпонентного лекарственного препарата для лечения АГ в форме таблеток под условным названием «Бисопамид». В состав таблеток в качестве АФИ входят бисопролола фумарат (кардиоселективный β -адреноблокатор), лизиноприла дигидрат (ингиби-

тор ангиотензипревращающего фермента), индапамид (тиазидоподобный диуретик), а также вспомогательные вещества, разрешенные к медицинскому применению: лактозы моногидрат, крахмал картофельный, микрокристаллическая целлюлоза, кальция стеарат [4]. Сочетание в разработанных таблетках АФИ разных фармакологических групп позволит расширить механизмы гипотензивного действия на повышенное артериальное давление, уменьшить частоту побочных эффектов, наиболее эффективно предупредить поражение органов-мишеней с уменьшением риска сердечно-сосудистых осложнений и использовать их для лечения АГ у больных с сопутствующими заболеваниями [7]. Разработка документа «Методики контроля качества на лекарственное средство» на оригинальные таблетки «Бисопамид» обусловило разработку методик идентификации и количественного содержания бисопролола фумарата, лизиноприла дигидрата и индапамида при их совместном присутствии в лекарствен-

ной форме. В настоящее время для химического анализа многокомпонентных лекарственных средств широко используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [5, 6, 8]. Данный метод позволяет разделить, идентифицировать и определить количественное содержание близких по физико-химическим свойствам АФИ в лекарственных формах, особенно при их содержании в очень низких концентрациях [9, 10].

Целью данной работы является разработка методик идентификации и количественного содержания АФИ нового комбинированного антигипертензивного препарата «Бисопамид» в форме таблеток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для идентификации и количественного определения содержания бисопролола фумарата (в перерасчете на бисопролол) лизиноприла дигидрата (в перерасчете на лизиноприл) и индапамида (в перерасчете на 100% вещество) в комбинированных антигипертензивных таблетках использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии ГФУ 1.2 п. 22.29 [2, 3]. При проведении хроматографического анализа использовали жидкостный хроматограф Agilent 1100 (США) с УФ-детектором. Объектами исследования были опытно-экспериментальные серии таблеток «Бисопамид», полученные методом прямого прессования в условиях промышленного производства на ПАО ХФЗ «Красная Звезда» (г. Харьков). В качестве стандартов определяемых АФИ применяли фармацевтические субстанции, соответствующие всем требованиям нормативной документации. Все остальные использованные реактивы имели квалификацию не ниже «ч.д.а.».

Идентификация АФИ в таблетках «Бисопамид».

На хроматограме анализируемого раствора, полученного в условиях количественного определения, время удерживания пиков лизиноприла дигидрата, бисопролола фумарата и индапамида должно совпадать со временем удерживания пиков лизиноприла, бисопролола и индапамида на хроматограммах раствора сравнения з точностью $\pm 3\%$ (лизиноприла дигидрат, бисопролола фумарат и индапамид).

Количественное определение АФИ в таблетках «Бисопамид».

Определение содержания бисопролола фумарата (в перерасчете на бисопролол), лизиноприла дигидрата (в перерасчете на лизиноприл) и индапамида (в перерасчете на 100% вещество) проводили с использованием ВЭЖХ [2, 3].

Условия анализа:

- колонка из нержавеющей стали размером 250x4,6 мм, заполненная октадецилсилильным сорбентом C18 с размером частиц 5 мкм, или аналогичная, для которой выполняются требования пригодности хроматографической системы;
- подвижная фаза: буферный раствор pH 7,0 – ацетонитрил Р – вода для хроматографии Р (15:30:55);
- скорость подвижной фазы: 1,5 мл/хв;
- температура колонки: 45°C;
- детектирование по длине волны 220 нм;
- порядок выхода пиков (относительное время удерживания): лизиноприл (0,2), бисопролол (0,5), индапамид (1,0).

Содержанием ацетонитрила в подвижной фазе можно незначительно варьировать, оставляя неизменной часть буферного раствора. При увеличении содержания ацетонитрила в подвижной фазе коэффициент распределения между пиками индапамида и бисопролола уменьшается.

Хроматографическая система считалась пригодной, если:

- число теоретических тарелок, рассчитанное по пикам лизиноприла, бисопролола и индапамида, не меньше 1000;
- относительное стандартное отклонение, рассчитанное по трем хроматограммам раствора сравнения, для площади пика лизиноприла, бисопролола и индапамида не больше 0,67;
- коэффициент симметрии пика лизиноприла, бисопролола и индапамида не меньше 0,5 и не больше 2,0;
- коэффициент распределения между пиком лизиноприла и пиком бисопролола не меньше 1,5.

Если выполнялись условия пригодности хроматографической системы, попеременно хроматографировали по 20 мкл анализируемого раствора и раствора сравнения, получая не меньше трех хроматограмм для каждого раствора.

Методика определения содержания АФИ в таблетках «Бисопамид»

Приготовление анализируемого раствора. 140 мг (точная навеска) порошка растертых таблеток помещали в мерную колбу объемом 100 мл, добавляли 70 мл растворителя, выдерживали в течение 10 минут на ультразвуковой бане при температуре 25°C с периодическим перемешиванием, доводили до метки растворителем и фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента», отбрасывая первые 5 мл фильтрата. Раствор использовали свежеприготовленный.

Приготовление раствора сравнения. В мерную колбу объемом 100 мл помещали 50 мг (точ-

ная навеска) стандартного образца лизиноприла дигидрата, 50 мг (точная навеска) стандартного образца бисопролола фумарата, 25 мг (точная навеска) стандартного образца индапамида, добавляли 70 мл растворителя, перемешивали до полного растворения, доводили объем раствора до метки растворителем и перемешивали.

5 мл полученного раствора переносили в мерную колбу объемом 50 мл, доводили объем раствора до метки растворителем, перемешивали. Раствор использовали свежеприготовленный.

Приготовление буферного раствора pH 7.0. В колбу на 1000 мл вносили 17,9 г калия гидрофосфата Р, 7,8 г калия дигидрофосфата Р и 4,0 г тетрабутиламмония гидросульфата Р, 800 мл воды для хроматографии Р, перемешивали до полного растворения.

Доводили pH до $(7,0 \pm 0,05)$ кислотой фосфорной Р и доводили объем раствора до метки водой для хроматографии Р. Раствор фильтровали

через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Срок хранения раствора – 5 суток при условии хранения в холодильнике при температуре от 2 до 8°C.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований по идентификации бисопролола фумарата, лизиноприла дигидрата и индапамида представлены на рис. 1-2.

Представленные хроматограммы (рис. 1-2) стандартных образцов бисопролола, лизиноприла, индапамида и анализируемого раствора таблеток «Бисопамид», которые в качестве АФИ содержат бисопролол, лизиноприл и индапамид, свидетельствуют об идентичности полученных результатов и подтверждают наличие в разработанных таблетках всех трех действующих компонентов.

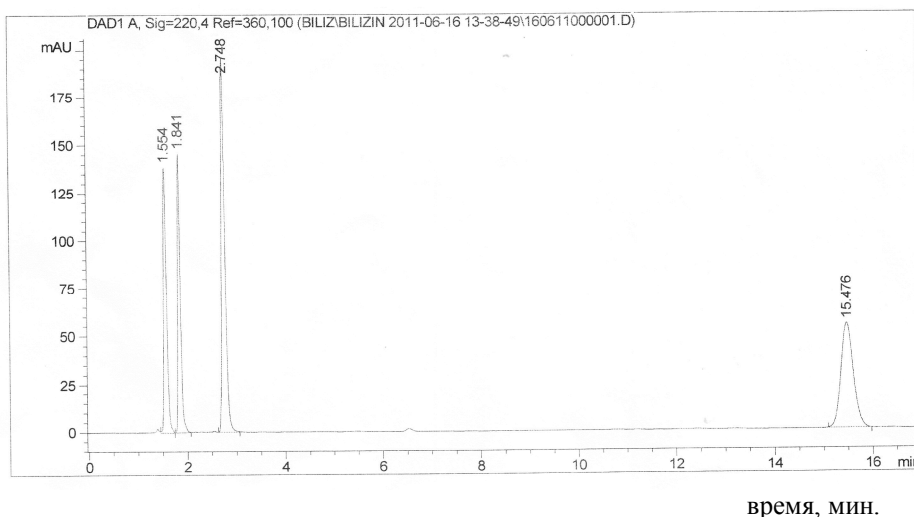


Рис. 1. Хроматограмма лизиноприла, бисопролола и индапамида (стандартные образцы): пик 1.554 – лизиноприл; пик 2.748 – бисопролол; пик 15.476 – индапамид.

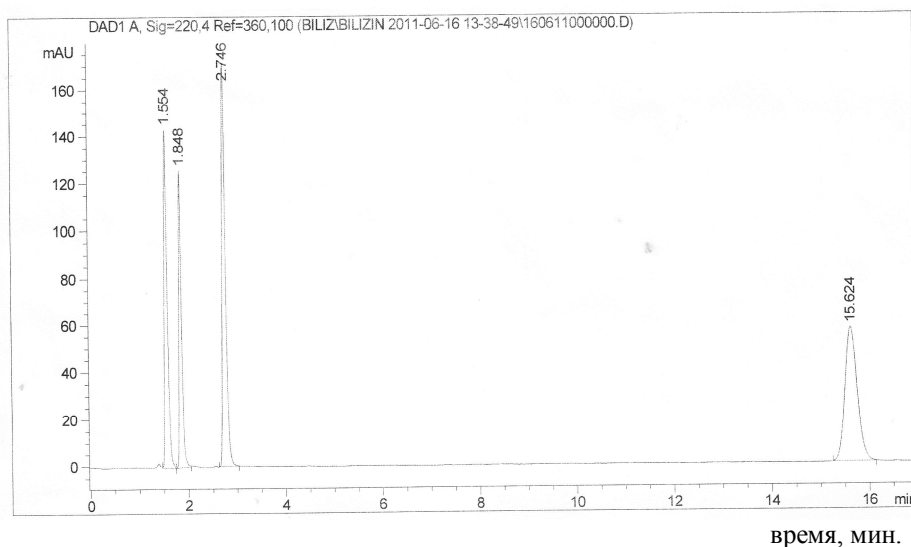


Рис. 2. Хроматограмма лизиноприла, бисопролола и индапамида (анализируемый раствор): пик 1.554 – лизиноприл; пик 2.746 – бисопролол; пик 15.624 – индапамид.

Содержание лизиноприла дигидрата (X_L) (в перерасчете на лизиноприл), в перерасчете на среднюю массу таблетки, в миллиграммах, рассчитывали по формуле (1):

$$X_L = \frac{S \cdot m_0 \cdot P \cdot b \cdot 405,5}{S_0 \cdot m \cdot 1000 \cdot 441,5}, \quad (1)$$

Содержание бисопролола фумарата (X_6) (в перерасчете на бисопролол), в перерасчете на среднюю массу таблетки, в миллиграммах, рассчитывали по формуле (2):

$$X_6 = \frac{S \cdot m_0 \cdot P \cdot b \cdot 766,96}{S_0 \cdot m \cdot 1000 \cdot 650,89}, \quad (2)$$

Содержание индапамида (X_u) (в перерасчете на 100% вещество), в перерасчете на среднюю массу таблетки, в миллиграммах, рассчитывали по формуле (3):

$$X_u = \frac{S \cdot m_0 \cdot P \cdot b}{S_0 \cdot m \cdot 1000}, \quad (3)$$

где S – среднее значение площади пика лизиноприла (бисопролола или индапамида соответственно), рассчитанное по хроматограммам испытуемого раствора;

S_0 – среднее значение площади пика лизиноприла (бисопролола или индапамида) соответ-

ственно, рассчитанное по хроматограммам раствора сравнения;

M – масса навески препарата, мг;

m_0 – масса навески стандартного образца лизиноприла дигидрата (бисопролола фумарата или индапамида) соответственно, мг;

b – средняя масса таблетки, мг;

P – содержание лизиноприла дигидрата (бисопролола фумарата или индапамида) в стандартном образце лизиноприла дигидрата, бисопролола фумарата или индапамида) соответственно, %.

Проведенные исследования количественного содержания стандартных образцов и анализируемого раствора таблеток «Бисопамид» (рис. 1–2) показали, что пики всех определяемых АФИ четко разделены. Соответствие времени удерживания хроматографических пиков отдельных веществ и анализируемого препарата «Бисопамид», а также разделение пиков подтверждает возможность идентификации и количественного определения бисопролола, лизиноприла и индапамида при их совместном присутствии в препарате. Полученные результаты и метрологические характеристики анализа таблеток «Бисопамид» представлены в табл. 1.

Содержание бисопролола фумарата (в перерасчете на бисопролол) и лизиноприла дигидрата (в перерасчете на лизиноприл) в одной таблетке должно быть в пределах 4,5 – 5,5 мг, а индапамида в пределах 2,75 – 2,25 мг, учитывая нормы допустимых отклонений ($\pm 10\%$) [2].

Таблица 1

Метрологические характеристики методики определения активных фармацевтических ингредиентов таблеток «Бисопамид»

Определено		f	X	S ²	S	Sx	P	t	ΔX_{cp}	$X \pm \Delta X_{cp}$	ϵ
г	%										
Бисопролол											
0,00504	100,8	4	100,02	0,577	0,7596	0,339	0,95	2,776	0,67	100,02 $\pm$ 0,67	0,70
0,00499	99,7										
0,00503	100,6										
0,00501	100,1										
0,00495	98,9										
Лизиноприл											
0,00498	99,6	4	100,46	1,333	1,1545	0,517	0,95	2,776	1,01	100,46 $\pm$ 1,01	1,01
0,00495	98,9										
0,00508	101,5										
0,00505	100,9										
0,00507	101,4										
Индапамид											
0,00250	99,8	4	100,20	1,34	1,1575	0,517	0,95	2,776	1,01	100,20 $\pm$ 1,01	1,01
0,00251	100,6										
0,00254	101,4										
0,00252	100,8										
0,00246	98,4										

Результаты исследований (табл. 1) показали, что содержание АФИ, а именно бисопролола fumarata (в перерасчете на бисопролол), лизиноприла дигидрата (в перерасчете на лизиноприл) и индапамида (в перерасчете на 100% вещество) в комбинированной лекарственной форме таблетках находится в дозванных пределах. Разработанные методики идентификации и количественного содержания АФИ в таблетках «Бисопамид» включены в документ «Методики контроля качества на лекарственное средство» комбинированные антигипертензивные таблетки «Бисопамид».

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать следующие выводы.

Впервые разработана методика идентификации и количественного определения активных фармацевтических ингредиентов комбинированных таблеток «Бисопамид»: лизиноприла дигидрата, бисопролола fumarata и индапамида методом ВЭЖХ.

Предлагаемые методики анализа комбинированных таблеток для лечения артериальной гипертензии позволяют получить достоверные и хорошо воспроизводимые результаты.

Разработанные методики легли в основу нормативной документации на новый оригинальный препарат для лечения артериальной гипертензии – таблетки «Бисопамид».

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреевская С.А. Комбинированная терапия артериальной гипертензии – вызов будущему // Ліки України. – 2013. – № 7(173). – С. 41-44.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр” – 1-е вид. Доповнення 2. – Харків : Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”, 2006. – 620 с.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр” – 1-е вид. Доповнення 3. – Харків : Державне підприємство “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2009. – 280 с.
4. Комбінований гіпотензивний засіб: пат. 47532 Україна, МПК (2009) А 61 К 31/215, А 61 К 31/7042, А 61 К 31/18, А 61 Р 9/02, А 61 Р 9/12. / І.В. Трутаєв, О.П. Стрілець. – № u 200908580; заявлено 14.08.2009; опубл. 10.02.2010, Бюл. № 3. – 4 с.
5. Онучак Л.А., Васильева М.В., Кудашкина Е.В., Куряева Ю.Г. Колоночная и тонкослойная жидкостная хроматография гипотензивных лекарственных средств каптоприл, карведилол, бисопролол, атенолол и амлодипин // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2012. – Т. 12, Вып. 3. – С. 355-362.
6. Сафронова И.А., Шафигулин Р.В., Васильева М.В., Буланова А.В. Определение бисопролола в лекарственных препаратах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Бутлеровские сообщения. – 2012. – Т. 30, № 5. – С. 68.
7. Трутаєв І.В., Стрілець О.П., Стрельников Л.С. Изучение специфической активности нового комбинированного антигипертензивного препарата // Запорожский мед. журн. – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 34-36.
8. Хомушку Г.М., Жлоба А.А., Пучнин В.С., Архипова М.В., Моисеева С.М. Анализ ингибиторов ангиотензин превращающего фермента – периндоприла, лизиноприла и хинаприла методом ВЭЖХ // Химико-фармацевтический журнал. – 2010. – Т. 44, № 11. – С. 33-37.
9. Яшин Я.И., Яшин А.Я. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Состояние и перспективы // Рос. хим. ж. – 2003. – Т. XLVII, № 1. – С. 64-79.
10. European Pharmacopeia. – 6 ed. – Strasbourg : Council of Europe, 2007. – 3308 p.
Paulis L., Steckelings U.M., Unger T. Key advances in antihypertensive treatment // Nat. Rev. Cardiol. – 2012. – Vol. 9, N 5. – P. 276-285.