

УДК 615.454.2.07:543.544.5.068.7

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЭЖХ В АНАЛИЗЕ СУППОЗИТОРИЕВ С ФЕНОТРОПИЛОМ И ЦИННАРИЗИНОМ

Дуккардт Л.Н., Сенченко С.П., Маркова О.М., Хартюнова Е.И.

*Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, Пятигорск, Россия (357532, Пятигорск, ул. Калинина, 11), [markovaolgami@mail.ru](mailto:markovaolgami@mail.ru)*

Разработана методика анализа суппозиториев, содержащих циннаризин и фенотропил. Для качественного и количественного анализа циннаризина и фенотропила использован метод ВЭЖХ. Исследование проведено на жидкостном хроматографе «Стайер» фирмы Аквилон (Россия – США - Чехия), снабженного колонкой Luna C-18 4,6×150 мм (Phenomenex, США), с содержанием углерода 16%. Установлено, что оптимальным является градиентный режим элюирования. В качестве подвижной фазы использовали ацетонитрил и раствор муравьиной кислоты 2%. Детектирование проводили при длине волны 254 нм. Проведенная валидационная оценка предложенной методики по критериям: линейность, правильность, прецизионность подтвердила возможность использования ее для количественного определения циннаризина и фенотропила в суппозиториях.

Ключевые слова: ноотропные препараты, фенотропил, циннаризин, суппозитории, ВЭЖХ.

## THE USE OF HPLC IN THE ANALYSIS OF SUPPOSITORIES WITH FENOTROPIL AND CINNARIZINE

Dukkardt L.N., Senchenko S.P., Markova O.M., Khartyunova E.I.

*Pyatigorsk Medical – Pharmaceutical Institute - branch of PBEI of HPT to VolgGMU, Pyatigorsk, Russia (357532, Pyatigorsk, Street Kalinin, 11), [markovaolgami@mail.ru](mailto:markovaolgami@mail.ru)*

The method of analysis suppositories containing cinnarizine and fenotropil was developed. The method of HPLC used for qualitative and quantitative analysis of cinnarizine and fenotropil. The study was conducted on a liquid chromatograph "Stayer" firm Aquilon (Russia - USA - Czech Republic) equipped with a column Luna C-18 of 4.6×150 mm (Phenomenex, USA), with a carbon content of 16%. It is established that the optimum is the gradient elution mode. Acetonitrile and formic acid 2% were used as the mobile phase. Detection was performed at a wavelength of 254 nm. Conducted a validation assessment of the proposed methodology criteria: linearity, accuracy, precision confirmed the possibility of its use for the quantitative determination of cinnarizine and fenotropil in suppositories.

Keywords: nootropic drugs, fenotropil, cinnarizine, suppositories, HPLC.

Сосудистые поражения мозга в экономически развитых странах в последние десятилетия выдвинулись в число ведущих причин смертности населения, составляя в её структуре около 14%. Мозговой инсульт определяет более 30% всех случаев смерти от сердечно-сосудистых заболеваний.

Факторами, способствующими развитию сосудистых заболеваний сердца и мозга, являются условия современной жизни, прежде всего экологическое неблагополучие, урбанизация и автоматизация, нервное перенапряжение в трудовых процессах, недостаточная двигательная активность, особенности современного питания, повышение потребления алкоголя [1].

Для лечения заболеваний, связанных с нарушением мозгового кровообращения, широко применяются ноотропные лекарственные средства.

Ноотропы - это вещества, оказывающие специфическое влияние на высшие интегративные функции мозга, улучшающие память, облегчающие процесс обучения, стимулирующие интеллектуальную деятельность, повышающие устойчивость мозга к повреждающим факторам, улучшающие кортикально-субкортикальные связи. Ноотропные препараты способны улучшать когнитивные (познавательные) функции как у здоровых людей, так и, в особенности, нарушенные при различных заболеваниях [1,2].

С целью расширения ассортимента ноотропных лекарственных средств была разработана оптимальная технология суппозиторий на гидрофильной основе, содержащих два ноотропных препарата - циннаризин и фенотропил. Циннаризин (транс-1-циннамил-4-дифенилметилпиперазин) избирательно влияет на мозговое, периферическое и коронарное кровообращение [2]. Фенотропил (N-карбамоил-метил-4-фенил-2-пирролидон) – ноотропный препарат нового поколения, отличающийся широким спектром действия и высокой активностью. Известно, что фенотропил может усиливать действие препаратов, стимулирующих ЦНС, антидепрессантов и ноотропных препаратов [3, 4].

**Целью** данного исследования явилась разработка методик анализа суппозиторий, содержащих циннаризин и фенотропил.

#### **Материалы и методы**

Материалом для исследования служили субстанции, соответствующие требованиям НД: фенотропил (ФСП 42-0348-4414-03) и циннаризин (НД 42-11672-06).

Для разработки методик анализа и ее валидационной оценки были изготовлены суппозитории с циннаризином и фенотропилом состава:

Циннаризина 0,05

Фенотропила 0,05

Основы (ПЭО) необходимое количество для получения суппозиторий массой 2,0 г.

Полученные суппозитории имели торпедообразную форму белого цвета со слегка кремоватым оттенком. Масса одного суппозитория находилась в пределах  $2,0 \pm 0,01$  г.

Для качественного и количественного анализа циннаризина и фенотропила в суппозиториях использовали метод ВЭЖХ.

Исследование проводили с использованием жидкостного хроматографа «Стайер» фирмы Аквилон (Россия – США - Чехия), снабженного колонкой Luna C-18 4,6×150 мм (Phenomenex, США), с содержанием углерода 16%.

В результате предварительных исследований было установлено, что оптимальным является градиентный режим элюирования. В качестве подвижной фазы использовали ацетонитрил и раствор муравьиной кислоты 2%. Содержание ацетонитрила первые три минуты составляло 30%, а с третьей до пятнадцатой минуты его концентрация возрастала до

100%, при расходе подвижной фазы 1 мл/мин. Объем пробы - 20 мкл. Детектирование проводили при длине волны 254 нм.

Для приготовления испытуемого раствора один суппозиторий помещали в термостойкую колбу с обратным холодильником, добавляли 100 мл спирта этилового 96% и нагревали на кипящей водяной бане до его полного растворения. Полученное извлечение охлаждали, фильтровали, переносили в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводили спиртом этиловым 96% до метки и перемешивали. Полученный раствор перед вводом в хроматограф центрифугировали при  $7000 \text{ мин}^{-1}$  в течение 5 мин.

Раствор СО готовили по методике: около 0,05 г (точные навески) фенотропила и циннаризина помещали в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяли в 100 мл спирта этилового 96% и доводили до метки тем же растворителем.

### Результаты и их обсуждение

Полученные хроматограммы раствора сравнения и испытуемого раствора представлены на рисунках 1 и 2.

Идентификацию проводили, сравнивая времена удерживания пиков на хроматограммах испытуемого раствора и раствора сравнения. Исходя из предложенных хроматограмм, следует, что время удерживания циннаризина и фенотропила в исследуемом растворе совпадает со временем удерживания этих веществ при анализе раствора стандартных образцов. Кроме того, методом добавок было установлено, что площади пиков увеличиваются пропорционально количеству добавленных стандартов, а асимметричность и эффективность остается на прежнем уровне, что свидетельствует о способности методики специфично определить циннаризин и фенотропил в суппозиториях.

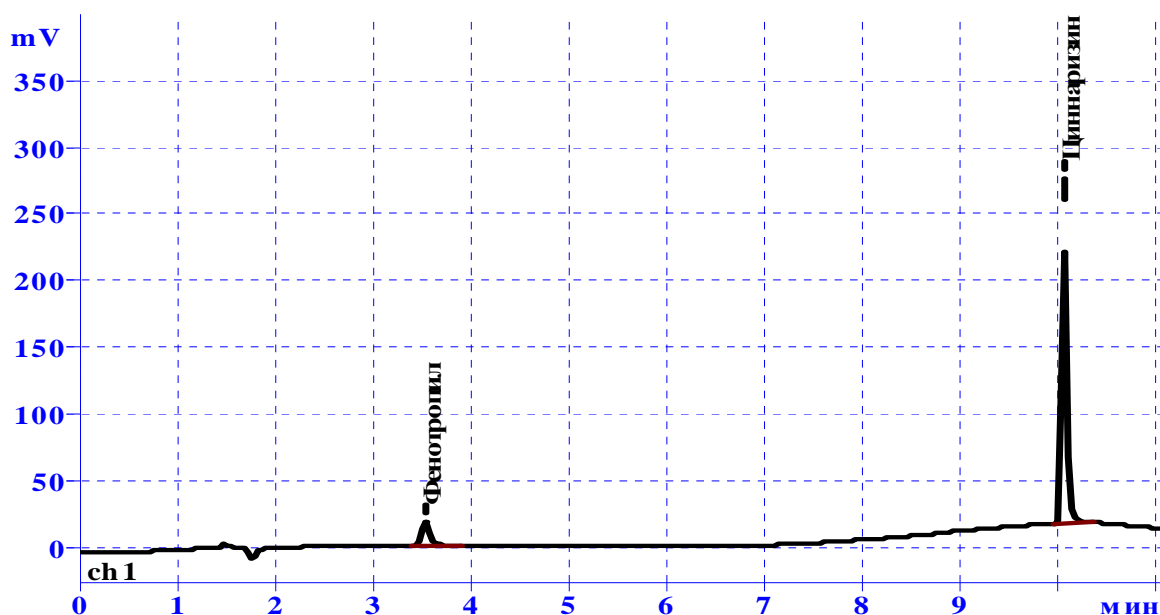


Рис. 1. Хроматограмма раствора СО, содержащего циннаризин и фенотропил

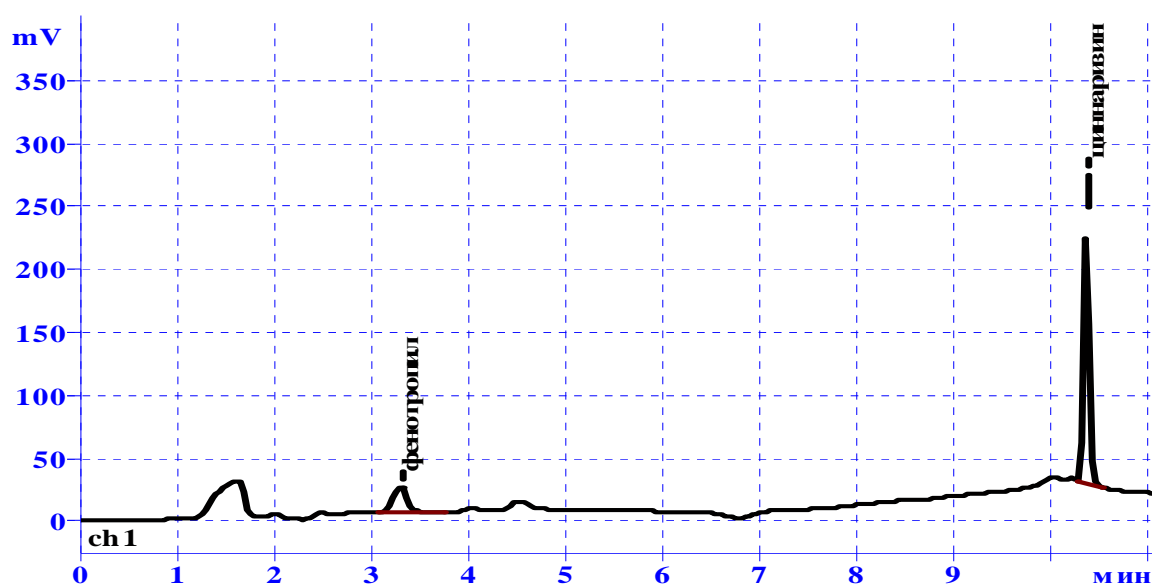


Рис.2. Хроматограмма испытуемого раствора из суппозитория с циннаризином и фенотропилом

Предложенная методика количественного определения циннаризина и фенотропила в суппозиториях была подвергнута валидационной оценке по критериям прецизионность (воспроизводимость), линейность и правильность [5].

Изучение зависимости между площадями пиков анализируемого раствора и содержанием в нем фенотропила и циннаризина показало, что она имела линейный характер при содержании фенотропила в интервале от 0,1 до 0,5 мг/мл, а циннаризина – от 0,05 до 0,4 мг/мл. Линейная зависимость выражается уравнениями:  $y=870,8x-8,3$  (для фенотропила) и  $y=10854,7x-201,3$  (для циннаризина), коэффициенты корреляции при этом составляли 0,999 и 0,998 соответственно.

Для установления прецизионности методики проводили 6 параллельных определений циннаризина и фенотропила. Определялась величина стандартного отклонения (SD) и относительного стандартного отклонения (RSD). Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты испытания прецизионности методики определения фенотропила и циннаризина в суппозиториях

Найдено фенотропила, г/суппозиторий	Метрологические характеристики	Найдено циннаризина, г/суппозиторий	Метрологические характеристики
0,0500		0,0489	

0,0498	$\bar{X} = 0,0498$ $SD = 0,000286$ $RSD = 0,57\%$	0,0498	$\bar{X} = 0,0493$ $SD = 0,000490$ $RSD = 0,99\%$
0,0496		0,0500	
0,0501		0,0492	
0,0499		0,0495	
0,0494		0,0488	

Для обоих веществ значение RSD составляет менее 1%, что свидетельствует о низком значении случайной погрешности.

Правильность разработанной методики определяли на модельной смеси циннаризина и фенотропила. Содержание активных веществ определяли предложенным методом ВЭЖХ. С этой целью был построен трехуровневый эксперимент по 3 опыта на каждом уровне. Для оценки полученных результатов наиболее простым и наглядным критерием служит открываемость (R). Полученные данные представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2

Результаты установления правильности методики количественного определения фенотропила

Уровень	Взято		Найдено фенотропила, г	R, %
	Навеска суппозитория, г	Расчетное содержание фенотропила, г		
1	1,53	0,0383	0,0378	98,69
1	1,56	0,0390	0,0391	100,26
1	1,51	0,0378	0,0380	100,53
2	2,03	0,0508	0,0507	99,80
2	2,02	0,0505	0,0509	100,79
2	2,05	0,0513	0,0511	99,61
3	2,58	0,0645	0,0651	100,93
3	2,52	0,0630	0,0633	100,48
3	2,55	0,0638	0,0633	99,22
				$\bar{R} = 100,03$

Результаты установления правильности методики количественного определения  
циннаризина

Уровень	Взято		Найдено циннаризина, г	R, %
	Навеска суппозитория, г	Расчетное содержание циннаризина, г		
1	1,53	0,0383	0,0382	99,74
1	1,56	0,0390	0,0391	100,26
1	1,51	0,0378	0,0377	99,74
2	2,03	0,0508	0,0506	99,61
2	2,02	0,0505	0,0506	100,20
2	2,05	0,0513	0,0514	100,19
3	2,58	0,645	0,647	100,31
3	2,52	0,0630	0,0635	100,79
3	2,55	0,0638	0,0635	99,53
				$\bar{R}=100,04$

Согласно данным таблиц 3 и 4 величина средней открываемости ( $\bar{R}$ ) для обоих веществ находится в пределах 99–101%, что свидетельствует об отсутствии влияния систематической погрешности на результаты эксперимента.

**Выводы:**

1. Разработана методика ВЭЖХ определения фенотропила и циннаризина в суппозиториях.
2. Проведена валидационная оценка предложенной методики по критериям: линейность, правильность, прецизионность.
3. Результаты валидационной оценки методики количественного определения циннаризина и фенотропила в суппозиториях показали, что этот метод позволяет достоверно определять данные вещества при их совместном присутствии.

**Список литературы**

1. Довгун С.С. Анализ «минимизации затрат» использования ноотропных препаратов в лечении больных с инсультом // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 6;

URL: [www.science-education.ru/100-5274](http://www.science-education.ru/100-5274).

2.Регистр лекарственных средств России РЛС-Энциклопедия лекарств.- 19-й вып./Под. ред. Г.Л. Вышковского. – М.: «РЛС-МЕДИА», 2010.- С. 80.

3.Ахапкина, В.И. Спектр фармакологических эффектов фенотропила / В.И.Ахапкина, Т.А. Воронина // Фарматека. – 2005. - № 13. - С. 19-25.

4.Фенотропил: новый лидер в ряду ноотропов // Новая аптека. Аптечный ассортимент .- 2005. - № 10. - С. 31-32.

5.Эпштейн, Н.А. Оценка пригодности (валидация) ВЭЖХ методик в фармацевтическом анализе (обзор) / Н.А. Эпштейн // Хим.-фармац. журнал. – 2004. – Т. 38, № 4. – С. 40-56.

**Рецензенты:**

Компанцев Д.В., д.фарм.н., профессор кафедры технологии лекарств Пятигорского медико-фармацевтического института, филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ, г.Пятигорск;

Попова О.И., д.фарм.н., профессор кафедры фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института, филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ, г. Пятигорск.